T.C.
ADIYAMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İNSÜLİN UYGULANMAYAN TİP – I DİYABETİK RATLARIN BEYİN VE BÖBREK DOKULARINDA LİPOFİLİK VİTAMİNLER VE ESANSİYEL YAĞ ASİTLERİ ÜZERİNE *Cyclotrichium niveum* EKSTRAKTININ ETKİSİ

MUSTAFA TOPALOĞLU

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ADIYAMAN, 2019

T.C.
ADIYAMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İNSÜLİN UYGULANMAYAN TİP – I DİYABETİK RATLARIN BEYİN VE BÖBREK DOKULARINDA LİPOFİLİK VİTAMİNLER VE ESANSİYEL YAĞ ASİTLERİ ÜZERİNE *Cyclotrichium niveum* EKSTRAKTININ ETKİSİ

Mustafa TOPALOĞLU

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Bu tez 17/07/2019 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Mehmet GÜVENÇ
Danışman

Doç. Dr. Mehmet TUZCU
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Sebile AZIRAK
Üye

Prof. Dr. Murat KOCA
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu'ndaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

İNSÜLİN UYGULANMAYAN TİP – I DİYABETİK RATLARIN BEYİN VE BÖBREK DOKULARINDA LİPOFİLİK VİTAMİNLER VE ESANSİYEL YAĞ ASİTLERİ ÜZERİNE *Cyclotrichium niveum* EKSTRAKTININ ETKİSİ

Mustafa TOPALOĞLU

Adıyaman Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Doç. Dr. Mehmet GÜVENÇ
Yıl : 2019, Sayfa sayısı: 63

Jüri : Doç. Dr. Mehmet TUZCU
Doç. Dr. Mehmet GÜVENÇ
Dr. Öğr. Üyesi Sebile AZIRAK

Bu çalışmada, tip –1 diyabetik ratların beyin ve böbrek dokularında lipofilik vitaminler ve esansiyel yağ asitleri üzerine *Cyclotrichium niveum* (CN) ekstratnın etkisi araştırıldı. Çalışmada 250-300 gr ağırlığında rastgele seçilen 32 adet yetişkin dişi Wistar albino sıçan grupta 8 sıçan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. 1. Grup; Kontrol (K), 2. Grup; Diyabet (STZ), 3. Grup; Dağ Nanesi (DN), 4. Grup; STZ+DN. Kontrol grubu standart diyetle beslendi. Diyabet grubuna (STZ) 55 mg/kg STZ uygulandı. STZ +DN grubuna 55 mg/kg STZ + 4 ml/kg DN oragastrik olarak verildi. DN grubu sıcak suda (100 ml), kurutulmuş 20 gr CN bitkisi demlemeye bırakıldı. 4 ml/kg oragastrik olarak verildi. Alfa linolenik asit (18:3, n-3) yağ asidinde kontrol grubuna göre bütün guruplarda azaldığı, böbrekte artığı gözlenmiştir ($p<0.001$; $p<0.01$). Beyin dokusunda retinolün, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bütün gruplarda önemli azalma gözlenmiştir ($p<0,001$; $p<0.01$). K_2 vitamin grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında STZ+DN grubunda önemli bir artış tespit edildi ($p<0.001$). Vitamin D_3 miktarı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında STZ ve DN grubunda anlamlı bir azalma tespit edilmiştir ($p<0.001$, $p<0.01$). Diğer guruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Anahtar Kelimeler: Diyabet; *Cyclotrichium niveum*; Yağ asitleri; ADEK vitaminleri; Malondialdehit.

ABSTRACT

MSc Thesis

THE EFFECT OF *Cyclotrichium niveum* EXTRACTS ON THE LIPOPHILIC VITAMINS AND ESSENTIAL FATTY ACIDS OF THE BRAIN AND KIDNEY TISSUES OF TIP–I DIABETIC RATS, NON APPLIED INSULIN TYPE 1 DIABETIC RATS

Mustafa TOPALOĞLU
Adiyaman University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor : Assoc. Prof. Mehmet GÜVENÇ
Year : 2019 , Number of pages: 63

Jury : Assoc. Prof. Mehmet TUZCU
Assoc. Prof. Dr Mehmet GÜVENÇ
Asst. Prof. Dr. Sebile AZIRAK

In this study, the effect of *Cyclotrichium niveum* (CN) extract on lipophilic vitamins and essential fatty acids in brain and kidney tissues of type-1 diabetic rats was investigated. In this study, 32 randomly selected adult female Wistar albino rats weighing 250-300 g were divided into 4 groups as 8 rats. Group 1; Control (K), Group 2; Diabetes (STZ), Group 3; Mountain Nanes (DN), Group 4; STZ + DN. The control group was fed a standard diet. Diabetes group (STZ) was given 55 mg / kg STZ. 55 mg / kg STZ + 4 ml / kg DN were given to the STZ + DN group oragastric. The DN group was allowed to infuse 20 g of dried CN plants in hot water (100 ml). 4 ml / kg was given oragastric. Alpha linolenic acid (18:3, n-3) decreased in all groups and increased in kidney compared to control group ($p < 0.001$; $p < 0.01$). Significant decrease in retinol of brain tissue was observed in all groups compared to the control group ($p < 0.001$; $p < 0.01$). A significant increase was detected in the STZ + DN group in the vitamin K2 group compared to the control group ($p < 0.001$). Vitamin D3 amount was significantly decreased in STZ and DN groups when compared with control group ($p < 0.001$, $p < 0.01$). No statistically significant change was observed in the other groups ($p > 0.05$).

Key Words: Diabetes; *Cyclotrichium niveum*; Fatty acids; ADEK vitamins; MDA.

DESTEKLER

Bu tez çalışması ADYÜBAP tarafından FEFYL/2019-0004 numaralı proje ile desteklenmiştir.

BEYAN

"İnsülin Uygulanmayan Tip – I Diyabetik Ratların Beyin Ve Böbrek Dokularında Lipofilik Vitaminler Ve Esansiyel Yağ Asitleri Üzerine *Cyclotrichium niveum* Ekstratnın Etkisi" başlıklı tezimde çalışmaların tamamen akademik kurallara ve etik değerlere sadık kalınarak yürütüldüğünü ve yazımda yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu ayrıca alıntılardan bilimsel etiğe uygun atıf yaparak yararlanmış olduğumu beyan ederim.

Mustafa TOPALOĞLU
İmza

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca ve tez çalışmalarım esnasında deneyimlerini ve bilgi birikimini benden esirgemeyen, yardımlarıyla bana yol gösteren çok değerli danışman hocam Doç. Dr. Mehmet GÜVENÇ'e ve her türlü desteği veren Prof. Dr. Ökkeş YILMAZ'a teşekkürü borç bilirim. Ayrıca bu yorucu süreç boyunca benden desteğini esirgemeyen sevgili eşime ve yetişmemde çok büyük emekleri olan kıymetli annem ve babama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET I
ABSTRACT II
DESTEKLER III
BEYAN IV
TEŞEKKÜR V
İÇİNDEKİLER VI
ÇİZELGELER DİZİNİ VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ IX
RESİMLER DİZİNİ X
SİMGELER VE KISALTMALAR XI
1. GİRİŞ 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 2
2.1. Diyabetin Tarihçesi 2
2.2. Diyabetin tanımı ve sınıflandırılması 3
2.2.1. İdiyopatik diabet 4
2.2.2. Gestasyonel Diabetes Mellitus 4
2.2.3. Tip1 diyabet 5
2.2.4. Tip 2 diyabet 6
2.3. Oksidatif Stres, Serbest Radikaller 7
2.3.1. Oksidatif Stres 7
2.3.2. Serbest radikaller 9
2.3.2.1. Süperoksit radikali 12
2.3.2.2. Hidrojen Peroksit Radikali 13
2.3.2.3. Hidroksil Radikali 14
2.4. Antioksidan Savunma Sistemleri 14
2.4.1. Endojen Antioksidanlar 16
2.4.1.1. Süperoksit Dismustaz 16
2.4.1.2. Katalaz (CAT) 16
2.4.1.3. Glutatyon peroksidaz (GPx) 17
2.4.1.4. Glutatyon (GSH) 17
2.4.2. Eksojen Antioksidanlar 18
2.4.2.1. Vitamin E 18
2.4.2.2. Vitamin A 18
2.4.3. D Vitamini 19
2.4.4. K Vitamini 20
2.5. Lipid peroksidasyonu 21
2.6. Yağ asitleri 21
2.6.1. Doymuş Yağ Asitleri 22
2.6.2. Doymamış Yağ Asitleri 22
2.6.3. Yağ Asiti Biyosentezi 23
2.6.4. Esansiyel Yağ asitleri 26
2.7. Dağ Nanesi (Cyclotrichium niveum) 29
2.8. Deneysel Diyabet Oluşturulması 30
2.9. Araştırmanın Amacı 32

3. MATERYAL ve YÖNTEM 33
3.1. Materyal 33
3.2. ADEK Vitaminlerinin Analiz Metodu 34
3.3. Lipitlerin Ekstraksiyonu 35
3.4. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Hazırlanması 35
3.5. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Gaz Kromatografik Analizinin yapılması 35
4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ 37
5. BULGULAR 38
5.1. Yağ asiti Parametreleri 38
5.1.1. Böbrek Yağ Asiti Parametreleri 38
5.1.2. Beyin Yağ asiti Parametreleri 41
5.2. Lipofilik Vitamin Düzeyleri 45
5.2.1. Böbrek Lipofilik Vitamin ve MDA Parametreleri 45
5.2.2. Beyin Lipofilik Vitamin ve MDA Parametreleri 47
6. TARTIŞMA 49
7. SONUÇLAR ve ÖNERİLER 54
KAYNAKLAR 55
KİŞİSEL BİLGİLİER 63

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 5.1 Hayvanlarda deney süresince gözlenen açlık kan şekeri değerleri 38
Çizelge 5.2 Böbrek yağ asiti kompozisyonu 40
Çizelge 5.3 Beyin yağ asiti kompozisyonu……..……..44
Çizelge 5.4 Böbrek lipofilik vitamin ve MDA parametreleri.…….……....…..46
Çizelge 5.5 Beyin lipofilik vitamin ve MDA parametreleri …….……....48

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Süperoksit radikali için moleküler oksijenin bir elektron azaltılması elektron konfigürasyonu gösterimi. 12
Şekil 2.2 Doymuş yağ asiti tekli kovalent bağlar 22
Şekil 2.3 Doymamış yağ asiti çiftli bağlar.....23
Şekil 2.4 Malonil-CoA'nın biyosentezi.....24
Şekil 2.5 Uzun zincirli yağ asitlerinin biyosentezi. Bir malonil kalıntısı ilavesinin asil zincirinin iki karbon atomu tarafından büyümesine neden olduğuna dair detaylar……..…..25
Şekil 2.6 İnsan ve memelilerde α-linolenik asit (18:3), ve linoleik (18:2) asitten n-3 ve n-6 Serisi Doymamış Yağ Asitlerinin Sentezi…….....27

RESİMLER DİZİNİ

Resim 2.1 *Cyclotrichium niveum* 29

SİMGELER ve KISALTMALAR

Simgeler

gr : gram
mg : miligram
ml : mililitre
µg : mikrogram
µm/l : mikromol/litre

Kısaltmalar

ATP : Adenozin tri fosfat
AKS : Açlık kan Şekeri
ALA : α-linoleik asit
CAT : Katalaz
Co-A : Koenzim A
DHA : Dokosaheksaenoik asit
EFA : Esansiyel yag asidi
EPA : Eikosapentaenoik asit
eNOS : Endotelyal nitrik oksit sentaz
FA : Yağ asiti
GC : Gaz kromatografisi
GPx : Glutatyon peroksidaz
GSH : Redükte glutatyon
GSHs : Glutatyon S-transferazlar
GSSG : Okside glutatyon
HDL : Yüksek yoğunluktaki lipoprotein
HIP : Hekzan izopropanol
HPLC : Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
$HO_2^{\cdot}$: Hidroksi peroksil
$HO^{\bullet}$: Hidroksi radikali
HOCl : Hipokloröz asit
H_2O_2 : Hidrojen peroksit
LDL : Düşük yoğunluktaki lipoprotein
LPO : Lipid peroksidasyonu
LOOH : Lipit peroksiti
MDA : Malondialdehit
MUFA : Tekli doymamış yağ asidi
NaCl : Sodyum klorür
NO : Nitrik oksit
$O_2^{\cdot -}$: Süperoksit anyonu
OH : Hidroksil
$ONOO^-$: Peroksinitrit

PUFA : Çoklu doymamış yağ asidi
RNS : Reaktif nitrit türleri
ROS : Reaktif oksijen türleri
SOD : Süperoksit dismustaz
STZ : Streptozotosin
XO : Ksantin oksidaz

1. GİRİŞ

Diyabet çağımızın önemli sağlık sorunlarından biridir. Günümüzde ulaşım ve iletişim teknolojilerindeki gelişmeler sonucu fiziksel aktivitelerin gittikçe azalmasıyla ortaya çıkan hareketsiz bir yaşam ve beslenme alışkanlıklarının değişimi sonucu görülen obezite sonucu diyabetli hasta sayısı dünyada ve ülkemizde hızlı bir artış göstermektedir. 2013 yılı istatistiklerine göre dünyada diyabetli hasta sayısı 382 milyon iken bu sayının 2035 yılına kadar artarak 592 milyona ulaşacağı tahmin edilmektedir. Ülkemizde de diyabet prevalansı Uluslar Arası Diyabet Federasyonun yayınladığı Diyabet Atlasına göre Avrupa ülkeleri arasında birinci sırada gelmektedir [1]. Diyabet neden olduğu komplikasyonlar ve bu komlikasyonların neden olduğu hastalıklar sonucu ciddi sağlık sorunları ve ölümler meydana gelmektedir. Dünyada ve ülkemizde sağlık harcamalarına ayrılan payın önemli bir kısmının diyabet hastalığı olduğu düşünüldüğünde konunun önemi anlaşılmaktadır.

Günümüzde birçok bitki antioksidan özellikleri nedeniyle insanlar tarafından kullanılmaktadır. Birçok bitki türünün de doğal antioksidan özelliği araştırılmaktadır. Bu bitkilerden biri de halk arasında ‘dağ nanesi’ olarak bilinen *Cyclotrichium niveum* dur. Bu bitki Türkiye’ye endemiktir ve ilimizde de bol miktarda yetişmektedir. Yaptığımız çalışma ile Adıyaman ilimizde yetişen endemik bir bitki olan dağ nanesi (*Cyclotrichium niveum*) ekstratının STZ ile deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanların beyin ve böbrek dokularında lipofilik vitamin ve esansiyel yağ asitleri üzerine etkisini ortaya koymaya çalıştık.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Diyabetin Tarihçesi

Diabetes mellitus bir hastalık olarak Eski Mısır'da yaklaşık 3.500 yıl önce hekimler tarafından biliniyordu. MÖ 1550'den kalma Ebers papirüsü, 1862'de Mısır'ın güneyinde Thebes bölgesinde bir mezarda bulundu ve Mısır bilimci Geary Ebers adına atfen Ebers papirüsü adını aldı. Papirüs, aralarında muhtemelen şeker hastalığı olan poliüreik bir sendrom olan çeşitli hastalıkların tanımlarını içerir. Mısırlılar, buğday ve toprak kaynatma da dâhil olmak üzere bu sendroma çeşitli ilaçlar önerdi. Ayrıca, Hintliler diyabetin kalıtım, obezite, hareketsiz yaşam ve diyetle ilişkisini fark ettiler. Kapadokyalı Aratus (81-138 MS); fiziksel ve zihinsel hastalık arasındaki farklılaşmasıyla en iyi bilinen şeker hastalığını poliürik israf hastalığı olarak nitelendirdi ve hastalığı tanımlamak için Yunanca diyabet kelimesini kullandı. İbni Sina (960-1037), diyabetin klinik özelliklerini ve bazı komplikasyonlarını (periferik nöropati, kangren ve erektil disfonksiyon) doğru bir şekilde tanımladı [2].

Modern zamandaki diyabetin tarihi, modern tıbbın deneysel temellerinin kurulmasıyla aynı zamana denk geldi. Tıp tarihinin önde gelen iki kilometre taşı, diyabetin patogenezini anlama yolunu açtı. Bunlardan birincisi, 18. yüzyılın 2. yarısında bir teşhis aracı olarak kimyanın uygulanmasıydı. İkincisi ise, Claude Bernard'ın (1813-1878) ve Brown-Sequard'ın (1817 - 1894) eserleri ile resmi bir disiplin olarak endokrinolojinin ortaya çıkmasıydı. Diyabet tarihindeki modern çağ, 1675 yılında Thomas Willis'in diyabetik hastaların idrarının tatlılığının yeniden keşfedilmesiyle başladı. Londra'da doktor olan Willis Yunan diyabetine ballı tatlı anlamına gelen Latince mellitus sözcüğünü ekleyerek hastalığı tanımladı. Ancak Willis bu idrar tatlılığını şekerin varlığına bağlayamadı. Dört yıl sonra, Frank diabet insipidus (tatsız idrar) ve diabet vera (tatlı idrar) içinde şeker benzeri madde varlığı temelinde, hastalığı sınıflandırdı. Yaklaşık bir yüzyıl sonra bir Liverpool doktoru olan Mathew Dobson (1735-1784), 1776'da diyabet hastalarının idrarında ve kanında

şeker bulunduğunu doğruladı. Daha sonra, 1815'te Fransız bir kimyager olan Michael Chevreal, şekerin aslında glikoz olduğunu gösterdi [2].

2.2. Diyabetin Tanımı ve Sınıflandırılması

Diabetes mellitus terimi, insülin salgılanmasında, insülin etkisinde veya her ikisinde meydana gelen kusurlardan kaynaklanan karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozuklukları olan kronik hiperglisemi ile karakterize çoklu etiyolojinin metabolik bir bozukluğunu tarif eder. Diabetes mellitusun etkileri arasında uzun süreli hasar, fonksiyon bozukluğu ve çeşitli organların yetersizliği sayılabilir. Diabetes mellitus susuzluk, poliüri, görme bulanıklığı ve kilo kaybı gibi karakteristik semptomlarla ortaya çıkabilir. En şiddetli formlarında, ketoasidoz veya ketotik olmayan bir hiperosmolar durum gelişebilir ve sersemlik, koma ve etkili bir tedavinin yokluğunda ölüme yol açabilir. Genellikle semptomlar şiddetli değildir veya yok olabilir ve sonuç olarak patolojik ve fonksiyonel değişikliklere neden olmak için yeterli hiperglisemi, tanı konmadan önce uzun süre mevcut olabilir [3].

Uzun süreli diyabet komplikasyonları arasında görme kaybı olan retinopati; böbrek yetmezliğine yol açan nefropati; ayak ülseri, amputasyon ve Charcot eklemi riski olan periferik nöropati; ve gastrointestinal, genitoüriner ve kardiyovasküler semptomlara ve cinsel işlev bozukluğuna neden olan otonom nöropati sayılabilir. Diyabet hastaları kardiyovasküler, periferik vasküler ve serebrovasküler hastalık riski altındadır. Diyabet gelişiminde çeşitli patogenetik süreçler söz konusudur. Bunlara pankreasın beta hücrelerini imha eden insülin yetersizliği ve insülin etkisine direnç ile sonuçlanan diğerlerini yok eden prosesler dahildir. Karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki anormallikler, insülinin duyarsızlık veya insülin eksikliğinden kaynaklanan hedef dokular üzerindeki yetersiz etkisinden kaynaklanmaktadır [3,4].

Diabetes mellitus farklı şekillerde sınıflandırılabilir, bu sınıflandırmalardan biri şu şekildedir: Tip I diyabet (İnsüline bağımlı), immün aracılı beta hücrelerinin yıkımına bağlı olarak insülin eksikliğine yol açar. İdiyopatik diyabet, bilinen etiyolojileri olmayan tip 1 diyabettir ve güçlü bir şekilde kalıtsaldır. Tip II diyabet (İnsüline bağımlı olmayan), insülin salgılama kusuruna ve insülin direncine bağlıdır.

Gestasyonel diabetes mellitus, başlangıçta veya ilk hamileliğin tanınmasıyla birlikte glikoza karşı herhangi bir hoşgörüsüzlük biçimidir [5].

2.2.1. İdiyopatik Diabet

Bilinen bir etiyolojisi olmayan bazı Tip 1 diyabet formları vardır. Bu hastaların bazılarında kalıcı insülinopeni vardır ve ketoasidoz eğilimlidir ancak otoimmünite kanıtı yoktur. Bu diyabet şekli Afrika ve Asya kökenli bireylerde daha yaygındır. Afrikalılarda bulunan başka bir biçimde, etkilenen hastalarda insülin replasman tedavisi için mutlak bir gereklilik gelip gidebilir ve hastalar periyodik olarak ketoasidoz geliştirir. Bu diyabet şekli olan kişiler, epizodik ketoasidozdan muzdariptir ve ataklar arasında değişken derecelerde insülin eksikliği sergilerler. Bu diyabet şekli güçlü bir şekilde kalıtsaldır, β hücre otoimmünitesi için immünolojik kanıtlardan yoksundur [3,4].

2.2.2. Gestasyonel Diabetes Mellitus

Gestasyonel diabetes mellitus ilk kez hamilelik sırasında tespit edilen çeşitli derecelerde glikoz intoleransı olarak tanımlanır. Gestasyonel diabetes mellitus bir hiperglisemi şeklidir. Genel olarak, hiperglisemi normal kan glikoz regülasyonu için doku taleplerini karşılamak için yetersiz olan bir insülin beslemesinden kaynaklanır. Hamileliğin geç dönemlerinde yapılan çalışmalar, insülin gereksinimlerinin yüksek olduğu ve normal ve gestasyonel diyabetik kadınlar arasında sadece biraz farklı olduğu durumlarda, Gestasyonel diabetes mellituslu kadınlarda besin maddelerine verilen insülin yanıtlarını sürekli olarak azalttığını ortaya koymaktadır. Gebelik öncesi veya sonrası, Gestasyonel diabetes mellituslu kadınlar genellikle normal kadınlardan daha fazla insüline dirençliyken, genellikle 2 grupta benzer olan veya Gestasyonel diabetes mellituslu kadınlarda hafifçe azalmış insülin yanıtlarını ortaya koyarlar. Bununla birlikte, insülin seviyeleri ve tepkileri her bireyin insülin direncinin derecesine göre ifade edildiğinde, pankreas hücre fonksiyonunda büyük bir kusur Gestasyonel diabetes mellituslu olan kadınlarda tutarlı bir bulgudur [6].

2.2.3. Tip1 Diyabet

Tip 1 diyabet (insüline bağlı diyabet olarak bilinir) , pankreastaki β-hücrelerini hedef alan bir T-hücresi aracılı otoimmün süreçten kaynaklanan ve mutlak insülin yetersizliğinden kaynaklanan bir otoimmün bozukluktur. En yaygın pediatrik hastalıklardan biridir ve çeşitli patogenez, klinik görünüm ve sonuç ile karmaşık bir hastalık olarak görülür [7].

Tip 1 diyabet pankreasın insülin üreten beta hücrelerinin otoümmün bir bozukluk sonucu yıkımı ile ortaya çıkan ve insülinin mutlak yokluğu olduğu için ömür boyu dışarıdan insülin enjeksiyonunu gerektiren bir hastalıktır [8,9].

Tip 1 diyabetin olası nedenleri arasında otoümminite, genetik faktörler, çevresel faktörler, viral enfeksiyonlar ve programlı hücre ölümleri olan apopitozis oluşturmaktadır [10]. Tip 1 diabetes mellitus çoğunlukla çocuklarda ve ergenlik çağlarında görülmesine rağmen daha ileriki yaşlarda da ortaya çıkabilir. Aşırı derece de su içme, aşırı yorgunluk, çok fazla miktarda idrar çıkarma ve ani ortaya çıkan kilo kaybı en tipik belirtileridir [11]. Son çalışmalar, hem Amerika Birleşik Devletleri'nde hem de diğer Batı ülkelerinde insidansında bir artış olduğunu belgelemiştir ve Amerika Birleşik Devletleri'nde insidans 100.000 başına 20 vakaya yaklaşmaktadır. 2, 4 ila 6 yaşlarında insidansta küçük artışlar ve 10 ila 14 yaşlarında daha büyük bir artış vardır. Amerikan İspanyol olmayan beyazlarda Afro-Amerikan veya Hispanik (İspanyol) bireylerle karşılaştırıldığında insidans yaklaşık 1,5 kat daha yüksektir. Tip 1 diyabet insidansında mevsimsel varyasyon vardır ve yılın daha serin aylarında daha fazla vaka sunulmaktadır [12].

Diyabet, hastaların her zaman komplikasyon riski altında oldukları bir tür hastalıktır. Komplikasyonlar makrovasküler yani koroner kalp hastalığı, periferik vasküler hastalık ve felç ile mikrovasküler yani nöropati, retinopati ve nefropati ve hem mikro hem de makrovasküler (diyabetik ayak) olabilir. Diyabetin mortalitesi ve morbiditesi, yaşlılarda mikrovasküler komplikasyon riskleri ile karşılaştırıldığında makrovasküler dejenerasyon ile daha fazla ilişkilidir. Genel olarak, diabetes mellitusun komplikasyonları iki gruba ayrılabilir. Metabolik akut komplikasyonlar: Bunlar kısa süreli olup hipoglisemi, ketoasidoz ve hiperosmolar ketonik olmayan

komadır. Sistemik geç komplikasyonlar: Diyabetik nefropati, mikroanjiyopati, diyabetik nöro ve retinopati, ateroskleroz ve enfeksiyonları içeren uzun vadeli kronik komplikasyonlardır [13,14].

2.2.4. Tip 2 Diyabet

Daha önce insüline bağımlı olmayan diyabet, tip 2 diyabet veya yetişkin başlangıçlı diyabet olarak adlandırılan bu diyabet tipi diyabetli hastaların% 90–95'ini oluşturur ve insülin direncine sahip olan ve genellikle nispi insülin eksikliği olan bireyleri kapsar. En azından başlangıçta ve sıklıkla yaşamları boyunca tip 2 diyabetli kişilerin hayatta kalmak için insülin tedavisine ihtiyaçları yoktur. Muhtemelen bu diyabet formunun birçok farklı nedeni vardır. Tip 2 diyabet hastalarının çoğu obezdir ve obezitenin kendisi bir dereceye kadar insülin direncine neden olur [4].

İnsülin direnci, insüline duyarlı dokuların genetik, metabolik ve beslenme bozulmaları nedeniyle hücresel düzeyde normal olarak insüline yanıt verme kabiliyetinin azalması olarak tanımlanır ve tip 2 diyabetin önemli nedenleri arasında bulunur. Hem genetik hem de çevresel faktörlerin bir sonucu olarak gelişen insülin direnci, obezite ile güçlü bir şekilde ilişkilidir. İnsülin direncinin artık tip 2 diyabet, kardiyovasküler hastalık ve diğer koşulların gelişiminde ilk adım olduğuna inanılmaktadır [15].

Glikoz homeostazisi, insülin sekresyonu, insülin etkisi, hepatik glikoz üretimi ve hücresel glikoz alımı ile sağlanır [16]. Karaciğer, kas ve yağ dokusundaki insülin reseptörleri normal olarak insüline hassas bir şekilde duyarlıdır. Beslenme sırasında, artan kan glikoz konsantrasyonuna cevap olarak salgılanan insülin hepatik glikoz üretimini inhibe eder ve esas olarak kasta glikoz atılmasını uyarır. Açlık sırasında, insülin sekresyonu bazal seviyelere düşer ve normal açlık kan şekeri konsantrasyonlarını korumak için hepatik glikoz üretimini daha düşük bir dereceye kadar engeller. Artan adipozite (şişmanlık) mevcudiyetinde, glukoz intoleransı yolundaki başlangıçtaki metabolik anormallik insülin direncidir. İnsülin direnci, insüline duyarlı dokuların genetik, metabolik ve beslenme bozulmaları nedeniyle hücresel düzeyde normal olarak insüline yanıt verme kabiliyetinin azalmasıdır [17].

Gelişen insülin direnci nedeniyle dokulara glikoz geçişi aksar ve dokulara geçemeyen glikoz kanda birikerek hiperglisemi ortaya çıkar. Bunun sonucunda kandan yeterince glikoz alamayan kas, yağ doku gibi dokularda erimeler ortaya çıkar [18,19].

2.3. Oksidatif Stres, Serbest Radikaller

2.3.1. Oksidatif Stres

Oksijenin yaşamı mümkün kılan temel faktör olduğu evrensel bir gerçektir. Aerobik yaşamın önemli bileşenlerinden biridir. Bununla birlikte, bazı durumlarda, bu oksijen nekroz ve sonuçta hücre ölümüne neden olan reaktif türler ürettiğinde bir hücre katili olabilir. RNS ve ROS ayrıca hücre içindeki normal fizyolojik işlemlere müdahale eden belirli mekanizmaların oluşumuyla oksidasyona neden olur [20]. Oksidatif stres, yaşlanma, ilaç eylemleri ve toksisite, iltihaplanma ve/veya bağımlılık gibi farklı faktörlerden dolayı antioksidanlar ve serbest radikal dengesinde serbest radikal lehine bozukluk olarak tanımlanabilir [21]. Genel olarak, reaktif azot türleri (RNS) ve reaktif oksijen türleri (ROS) gibi yüksek oranda reaktif moleküllerin aşırı oluşumu veya yetersiz uzaklaştırılması sonucu oksidatif stres oluşur [22].

Oksijen, potansiyel olarak zararlı ve zarar veren moleküllerin (Serbest radikaller) bir parçası olma kabiliyetine sahip oldukça reaktif bir türdür. Oksidatif stres, vücudun sağlıklı hücrelerine, serbest radikallerin saldırarak işlevlerini ve yapılarını kaybetmelerine neden olur. Antioksidan seviyenin sınırlı olduğu zaman, bu hasar zayıflatıcı ve kümülatif hale gelebilir [23]. Oksidasyona bağlı olarak DNA, proteinler ve diğer makromoleküllerin zarar görmesi, en başta kanser ve kalp hastalığı olmak üzere çok çeşitli hastalıkların patogenezinde rol oynamıştır [24].

Antioksidan terimi, bir substratın oksidasyonunu inhibe eden veya geciktiren herhangi bir madde olarak tanımlanabilir. Antioksidan savunmada rol oynayan ve oksidatif stresin biyobelirteçleri olarak düşünülebilecek endojen veya eksojen türler veya moleküller vardır. Antioksidanlar, etki mekanizmalarına bağlı olarak zincir kırma antioksidanları veya önleyici antioksidanlar olarak ayrılabilir [25]. Oksidatif

stresin, diyabetin, özellikle tip 2 diyabetin vasküler komplikasyonlarının gelişiminde önemli rol oynadığına inanılmaktadır [26]. Diyabette ROS seviyesinin yükselmesi, katalaz, süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi antioksidan enzimlerin yeterince etkilik gösterememesinden kaynaklanır. Bu enzimlerin seviyelerindeki farklılıklar, dokuları diyabetik komplikasyonların gelişmesine yol açan oksidatif strese duyarlı hale getirir [27].

Günümüzde, tip 1 ve Tip 2 diyabetin patogenezinde oksidatif stresin rolünü destekleyen kanıtlar bildirilmiştir. Proteinlerin enzimatik olmayan glikasyonu, glikoz oksidasyonu ve artmış lipid peroksidasyonu ile diyabette serbest radikal oluşumu, enzimlerin, hücresel makinelerin zarar görmesine ve ayrıca oksidatif stres nedeniyle artan insülin direncine yol açar [28]. Diabetes mellitusta, oksidatif stresin ana kaynakları mitokondridir. Mitokondride oksidatif metabolizma sırasında, kullanılan oksijenin bir bileşeni suya indirgenir ve kalan oksijen, $ONOO^-$, OH ve H_2O_2 gibi diğer reaktif oksiten türlerine dönüştürülen önemli bir ROS olan oksijen serbest radikaline dönüştürülür [29]. İnsülin sinyalizasyon iki şekilde ROS/RNS tarafından modüle edilir. Bir tarafta, insüline yanıt olarak, ROS / RNS, tam fizyolojik işlevini uygulamak için üretilir ve diğer tarafta, ROS ve RNS, insülin sinyali üzerinde olumsuz bir düzenleme yapar ve bunları tip 2 diyabet için bir risk faktörü olan insülin direncini geliştirmek için yorumlar [30].

Deneylerden elde edilen birçok kanıt, DNA hasarı biyobelirteçlerini ve lipit peroksidasyon ürünlerini içeren çeşitli biyobelirteçleri ölçerek diyabet ve oksidatif stres arasında bir bağlantı vermiştir. Geç diyabetik komplikasyonun başlangıcında ve ilerlemesinde, serbest radikallerin lipidlere, proteinlere ve DNA'ya zarar verme yetenekleri nedeniyle önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır [31]. Romatoid artrit, Diabetes mellitus ve kanser gibi oksidatif stres tarafından çeşitli patolojik durumlar indüklenir [32]. Serbest radikal ve oksidatif stres kaynaklı komplikasyonlar diyabet, koroner arter hastalığı, nöropati, nefropati içerir [33]. İn vivo çalışmalar, diyabetik hastaların kan damarlarında endotel disfonksiyonuna yol açan oksidatif stres oluşumunda hipergliseminin rolünü desteklemektedir [34]. Diyabetli hastalarda dislipidemi ile birlikte glikoz ve insülin düzeylerinde artış, ateroskleroza yol açan oksidatif strese neden olan makroanjiyopatileri geliştirir [35].

2.3.2. Serbest Radikaller

Oksijen yaşam için vazgeçilmez bir unsurdur. Hücreler enerji üretmek için oksijen kullandıklarında, mitokondri tarafından ATP (adenozin trifosfat) üretiminin bir sonucu olarak serbest radikaller oluşturulur. Bu yan ürünler genellikle reaktif oksijen türlerinin (ROS) yanı sıra hücresel redoks işleminden kaynaklanan reaktif azot türleridir (RNS). Bu türler hem toksik hem de yararlı bileşikler olarak ikili bir rol oynamaktadır. İki antagonistik etkisi arasındaki hassas denge açıkça yaşamın önemli bir yönüdür. Düşük veya orta seviyelerde, ROS ve RNS hücresel tepkiler ve bağışıklık fonksiyonu üzerinde faydalı etkiler gösterir. Yüksek konsantrasyonlarda, tüm hücre yapılarına zarar verebilecek zararlı bir işlem olan oksidatif stres oluştururlar. Oksidatif stres, kanser, artrit, yaşlanma, otoimmün hastalıklar, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar gibi kronik ve dejeneratif hastalıkların gelişiminde önemli bir rol oynar. İnsan vücudu, doğal olarak yerinde üretilen veya harici olarak gıdalar veya takviyeler yoluyla tedarik edilen antioksidanlar üreterek oksidatif stresi gidermek için çeşitli mekanizmalara sahiptir. Endojen ve eksojen antioksidanlar, ROS ve RNS'nin neden olduğu zararları önleyerek ve onararak "serbest radikal temizleyiciler" olarak işlev görür ve bu nedenle bağışıklık savunmasını artırabilir, kanser ve dejeneratif hastalıkların riskini azaltabilir [36].

ROS ve RNS, serbest radikalleri ve ayrıca oksidanlar olarak da adlandırılan diğer radikal olmayan reaktif türevleri toplu olarak tanımlayan terimlerdir. Radikaller, radikal olmayan türlere göre daha az stabildir, ancak reaktiviteleri genellikle daha güçlüdür. Dış kabuğunda bir veya daha fazla eşleştirilmemiş elektron bulunan bir moleküle serbest radikal denir. Serbest radikaller, bir kimyasal bağın kırılması yoluyla moleküllerden oluşur, böylece her parça bir elektronu, bir radikalin bölünmesiyle başka bir radikal vermek ve ayrıca redoks reaksiyonları yoluyla tutar [36].

Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşleştirilmemiş elektron içeren moleküller veya moleküler fragmanlar olarak tanımlanır. Bu eşlenmemiş elektronların varlığı genellikle serbest radikal üzerine önemli derecede reaktivite sağlar. Oksijenden türetilen serbest radikaller, canlı sistemlerde üretilen bu türlerin

en önemli sınıfını temsil eder [37]. Reaktif oksijen türleri (ROS) hem endojen hem de eksojen maddelerden üretilebilir. Potansiyel endojen kaynaklar mitokondri, sitokrom P450 metabolizması, peroksizomlar ve inflamatuar hücre aktivasyonunu içerir [38]. Mitokondrinin uzun zamandır önemli miktarda hidrojen peroksit ürettiği bilinmektedir. Hidrojen peroksit molekülü eşleştirilmemiş bir elektron içermez ve bu nedenle radikal bir tür değildir. Fizyolojik koşullar altında, hidrojen peroksit üretiminin organizma tarafından toplam oksijen alımının yaklaşık %2'sini oluşturduğu tahmin edilmektedir. Bununla birlikte, sağlam mitokondride süperoksit radikalinin oluşumunu, muhtemelen yüksek süperoksit dismustaz (SOD) aktivitesinin varlığından dolayı tespit etmek zordur [39]. Mitokondriyal süperoksit üretiminin hidrojen peroksit oranlarının belirlenmesinden sonra, birincisi, ikincisi için stokiyometrik öncü olarak kabul edildi. Mitokondri, mg protein başına yaklaşık dakikada 2-3 nmol süperoksit üretir; her yerde bulunması, canlı organizmalarda bu radikalin en önemli fizyolojik kaynağı olduğunu gösterir [38].

Mitokondri serbest radikal üretiminin ana bölgesi olduğundan, organeldeki oksidatif stresi en aza indirgemek için membranlarının her iki tarafında bulunan süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon (GSH) gibi enzimler de dâhil olmak üzere antioksidanlar ile son derece zenginleştirilirler [40]. Mitokondriyal iç membranların her iki tarafında oluşan süperoksit radikalleri, başlangıçta hidrojen peroksit ve daha sonra Cu, Zn-SOD (SOD_1, intermembran boşlukta lokalize) ve Mn-SOD (SOD_2, matriste lokalize) ile suya detoksifiye edilir. Mitokondrinin yanı sıra, türler arasında ve memelilerin çeşitli dokularında yaygın olarak dağıtılan çok yönlü bir enzim olan Ksantin oksidaz (XO) gibi diğer süperoksit radikalinin hücresel kaynakları da vardır [41]. Ksantin oksidaz, oksijensiz radikallerin önemli bir kaynağıdır. Molibden demir-kükürt flavin hidroksilazları olarak bilinen bir enzim grubunun bir üyesidir ve pürinlerin hidroksilasyonunu katalize eder. Özellikle, ksantin oksidaz (XO) hipoksantin ksantin ve Ksantin ürik asit reaksiyonunu katalize eder. Her iki adımda da moleküler oksijen azalır, ilk adımda süperoksit anyonu ve ikincisinde hidrojen peroksit oluşur [37]. Hücresel reaktif oksijen türlerinin ilave endojen kaynakları nötrofiller, eozinofiller ve makrofajlardır. Aktif makrofajlar, süperoksit anyon, nitrik oksit ve hidrojen peroksit

de dâhil olmak üzere çeşitli reaktif oksijen türlerine yol açan oksijen alımında bir artış başlatır [42].

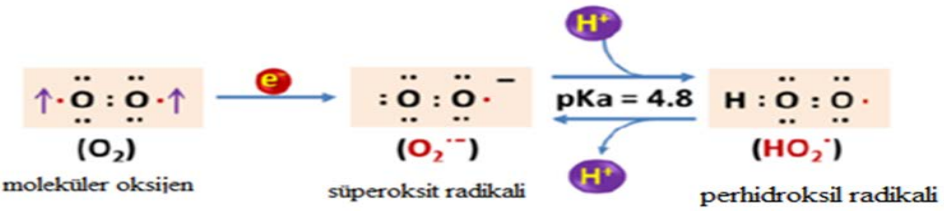
Sitokrom P450 ayrıca reaktif oksijen türlerinin kaynağı olarak önerilmiştir. Sitokrom P450 enzimlerinin indüksiyonu ile reaktif oksijen türlerinin, özellikle süperoksit anyon ve hidrojen peroksit üretimi olasılığı, P450 katalitik döngüsünün parçalanması veya ayrılmasından sonra ortaya çıkar. Buna ek olarak, mikrozomlar ve peroksizomlar reaktif oksijen türlerinin (ROS) kaynaklarıdır. Mikrozomlar, hiperoksi bölgelerinde vivo olarak üretilen H_2O_2 konsantrasyonunun % 80' ninden sorumludur [43]. Peroksizomların fizyolojik şartlar altında H_2O_2 ürettiği ancak süperoksit ($O_2^{\cdot -}$) üretmediği bilinmektedir. Karaciğer, genel H_2O_2 üretimine peroksisomal katkının önemli olduğu birincil organ olmasına rağmen, peroksizom içeren diğer organlar da bu H_2O_2 üreten mekanizmalara maruz kalmaktadır. Yağ asitlerinin peroksisomal oksidasyonu son zamanlarda uzun süreli açlık sonucunda H_2O_2 üretiminin potansiyel olarak önemli bir kaynağı olarak kabul edilmiştir [44]. Reaktif oksijen türleri bir dizi ekzojen süreç tarafından üretilebilir. Çevresel ajanlar doğrudan hücrelerde reaktif oksijen türlerini üretebilir veya dolaylı olarak indükleyebilir. Oksidatif stres ve hasarın indüksiyonu, çeşitli ksenobiyotiklere maruz kaldıktan sonra gözlenir. Bunlar klorlu bileşikler, metal (redoks ve redoks olmayan) iyonları, radyasyon ve barbitüratları içerir [45].

Yaşamın devamı için vazgeçilmez bir molekül olan oksijen aynı zamanda reaktif oksijen türlerinin de oluşumuna neden olmaktadır. Bir oksijen molekülü (O_2) in vivo ortamda metabolize edildiğinde dört elektron indirgemeye maruz kalır. Bu işlem sırasında, reaktif oksijen metabolitleri enerjinin ilavesine ikincil elektronların uyarılması veya geçiş elementleri (Fe ve Cu gibi) ile etkileşimi ile üretilirler. Bu şekilde üretilen reaktif oksijen metabolitleri, orijinal oksijen molekülünden daha fazla reaktifdir ve raktif oksijen türü olarak adlandırılır. Superoksit radikali($O_2^{\cdot -}$) , hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikalleri($OH^{\cdot}$) ve singlet oksijen ($^1O_2$), nitrik oksit (NO) önemli serbest radikal türleridir. Aerobik organizmalar için, bu yüksek oranda reaktif aktif oksijen türlerini çıkarmaya yönelik bir mekanizma, yaşamı sürdürmek için esastır. Bu nedenle, canlılarda antioksidan savunma mekanizmaları

geliştirilmiştir. Bu oksijen metabolitlerinin yüksek reaktivitesinin çeşitli biyolojik olayları kontrol etmek için kullanıldığı da doğrudur. Biyolojik açıdan bakıldığında, oksijenden türetilmiş serbest radikaller, aşağıdaki nedenlerden dolayı dikkat çekmektedir: Oksijen kullanımı sırasında vücutta çeşitli reaktif oksijen türleri üretilir. Vücut, reaktif oksijen türlerini ve serbest radikalleri uzaklaştırmak için ayrıntılı mekanizmalarla donatıldığından, bu oksijen metabolizmasının yan ürünleri fizyolojik koşullar altında vücuda tehdit oluşturmaz. Bununla birlikte, eğer reaktif oksijen türleri veya serbest radikaller aşırı miktarda veya anormal bölgelerde üretilirse, oluşum ve bertaraf arasındaki denge kaybolarak oksidatif strese neden olur. Böylece, reaktif oksijen türleri diğer serbest radikaller biyolojik membran ve dokulardaki moleküllere saldırabilir ve bu nedenle yukarıda değinilen çeşitli hastalıklara neden olabilir [46].

2.3.2.1. Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot -}$)

Süperoksit radikali, moleküler dioksijenin bir elektron indirgenmesinden üretilir ($O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\cdot -}$). Moleküler oksijen ($O_2$) aslında bir diradikaldir çünkü iki eşleştirilmemiş elektron içerir. Moleküler O_2'deki eşleşmemiş iki elektronun dönüş yönünün aynı olması, O_2'yi daha az reaktif hale getiren spin kısıtlamasına neden olur. Öte yandan, süperoksit ($O_2^{\cdot -}$) bir eşlenmemiş elektron içerir ve O_2'den bir fazla elektrona sahip olup, bu nedenle süperoksit negatif olarak yüklenmiştir. Süperoksit, $O_2^{\cdot -}$ 'den daha reaktif olduğuna inanılan perhidroksil radikalini ($HO_2^{\cdot}$) oluşturmak için protonlanabilir (şekil 2.1) [47].



Şekil 2.1 Süperoksit radikali için moleküler oksijenin bir elektron azaltılması elektron konfigürasyonu gösterimi [47].

Biyolojik sistemlerde, çeşitli metabolik işlemlerden süperoksit radikali üretilir. Bunlar arasında mitokondriyal elektron taşıma zinciri kompleksleri, NADPH oksidazlar (NOX olarak da bilinir), ksantin oksidoredüktaz, endotelyal nitrik oksit sentazın ayrılması (eNOS) ve sitokrom P450 enzim sistemi bulunur [47]. Hem NOX'ler hem de mitokondri, hücresel süperoksit üretiminde kilit makinelerdir. Mitokondri genellikle, temel olarak mitokondrial elektron taşıma zincirinden sızan elektronlar tarafından moleküler oksijenin univalent indirgenmesinden türetilen, başlıca hücresel süperoksit kaynağı olarak kabul edilir [48].

Her ne kadar süperoksit olarak adlandırılsa da, süperoksit aslında güçlü bir oksitleyici tür değildir. Düşük indirgeme potansiyeli nedeniyle, süperoksit genellikle oksitleyici bir türden ziyade bir indirgeyici madde olarak özellikle H_2O_2 kaynağı ve geçiş metal iyonlarının (Cu ve Fe) indirgeyicisi olarak işlev görür [49].

$Fe^{2+} + O_2 \rightarrow Fe^{3+} + O_2^{\cdot -}$

$Cu+ + O_2 \rightarrow Cu^{2+} + O_2^{\cdot -}$

$HO_2^{\cdot} + O_2^{\cdot -} + H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$ [50].

Süperoksitin, lipitler, proteinler ve nükleik asitler dahil olmak üzere doğrudan biyomolekülleri oksitleme kabiliyeti çok sınırlıdır. Bununla birlikte, süperoksit, hücre ve doku yaralanmasına, diyebet komlikasyonlarına neden olabilecek önemli bir reaktif oksijen türüdür [51].

2.3.2.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2) Radikali

Hidrojen peroksit (H_2O_2) radikal olmayan bir reaktif oksijen türüdür. Hidrojen peroksit (H_2O_2), O_2 iki elektron eklenmesiyle veya süperoksit radilanin süperoksit dismustas enzimi tarafından dismustasyona uğratılmasıyla meydana gelir. ($2O_2^{\cdot -} + H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$). Süperoksit anyon radikalinin aksine, H_2O_2 nispeten kararlıdır ve aquaporin ile kolaylaştırılmış transmembran difüzyonu yoluyla hücre membranlarını kolayca geçebilir. Hidrojen peroksit (H_2O_2), çeşitli hücresel kaynaklar, özellikle mitokondri tarafından üretilen majör bir reaktif oksijen türüdür. Her ne kadar yüksek H_2O_2 seviyeleri oksidatif strese yol açsa da, hücre ve doku

hasarına neden olarak, düşük konsantrasyonlarda ve formasyonu sıkı bir şekilde kontrol edildiğinde, H_2O_2 hücre sinyal transdüksiyonuna katılan ikinci bir haberci olarak işlev görür [52].

Hidrojen peroksit bir serbest radikal olmamasına karşın asıl zararlı etkisini süperoksitle tepkimesinden ve ayrıca fenton reaksiyonu olarak bilinen Fe^{+2} ile tepkimeye girerek çok zararlı ve oldukça reaktif olan hidroksil radikalini ($OH^{\bullet}$) meydana getirmesidir ($Fe^{+2} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{+3} + OH^{\bullet} + OH^{-}$) [53].

2.3.2.3. Hidroksil Radikali ($OH^{\bullet}$)

Süperoksit ve hidrojen peroksit demir ve bakır (Fe^{+2}, Cu^{+}) gibi geçiş metal iyonlarının varlığında, Haber-Weiss reaksiyonu ve Fenton reaksiyonu olarak bilinen reaksiyonlar sonucunda ve yarılanma ömrü çok kısa olan bilinen en güçlü reaktif oksijen türü olan hidroksil radikalinin ($OH^{\bullet}$) neden olur [54].

$Fe^{+2} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{+3} + OH^{\bullet} + OH^{-}$ (fenton reaksiyonu)

$O_2^{\bullet -} + H_2O_2 \rightarrow OH^{\bullet} + OH^{-} + O_2$ (Haber-Weiss reaksiyonu)

Hidroksil radikali hücrelerdeki aminoasit, yağ asitleri, DNA ve RNA, karbonhidratlar ve fosfolipitler gibi biyomoleküllere saldırıp onlardan proton (H) koparılması sonucu yeni serbest radikallerin oluşmasına neden olarak hücrelere zarar verir [55].

2.4. Antioksidan Savunma Sistemleri

Hidroksil radikalleri ($OH^{\bullet}$), süperoksit anyonları ($O_2^{\bullet -}$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi az miktarda reaktif oksijen türü, hem dış hem de iç uyaranlara cevap olarak aerobik organizmalarda sürekli olarak üretilir. Düşük reaktif oksijen türü

seviyeleri, diğerlerinin yanı sıra proliferasyona (hücrelerin çoğalması) veya apoptoza (programlı hücre ölümü), mikro organizmalara karşı savunmaya yol açan hücre içi mesajlaşma dâhil olmak üzere, birçok işlem sürecinde vazgeçilmez olabilir. Buna karşılık, yüksek dozlarda üretilen ve yeterli bir şekilde etkisiz hale getirilemeyen reaktif oksijen türleri ciddi metabolik bozukluklara ve biyolojik makromoleküllerde hasara neden olabilecek oksidatif strese neden olur [56].

Biyolojik bir antioksidan, oksitlenebilir bir substrata kıyasla düşük konsantrasyonlarda mevcut olan ve bu substratın oksidasyonunu önemli ölçüde geciktiren veya önleyen herhangi bir madde olarak tanımlanmıştır. İdeal bir antioksidan vücut tarafından kolayca emilmeli ve reaktif oksijen türlerinin oluşumunu önlemeli, sulandırmalı veya redoks metallerini fizyolojik olarak ilgili seviyelerde önlemelidir [57,58]. Antioksidanlar, diğer moleküllerin oksidasyonunu yavaşlatabilen veya önleyebilen moleküllerdir. Biyolojik sistemde bunlar hücreleri serbest radikallerin neden olduğu zararlardan korurlar. Antioksidanların etkilerini gösterebilecekleri çeşitli yollar olsa da iki etki mekanizması çok önemlidir. Birincisi, birincil antioksidanın serbest radikale bir elektron verdiği ve serbest radikali nötralize ettiği zincir kırma mekanizmasıdır. İkinci mekanizmada, reaktif oksijen ve reaktif azot türlerini üreten zincir başlatıcı katalizörü söndürerek reaksiyon başlatılmasının engellediği mekanizmadır. Her iki mekanizmada da antioksidanlar serbest radikalleri nötralize eder ve kendileri okside olurlar. Antioksidanların kanser, kalp hastalığı, romatoid artrit, katarakt, alzheimer hastalığı vb. gibi kronik hastalıkların önlenmesinde rol oynadığına inanılmaktadır [59,60].

Vücut oksidatif stresin hasarlarını ve serbest radikallerin zararlarını gidermek için kullandığı antioksidanlar endojen ve eksojen antioksidanlar olarak incelenebilir. Endojen antioksidanlara vücutta doğal olarak üretilen süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon (GSH), örnek verilebilirken [61]. Eksojen antioksidanlara vücutta doğal üretilemeyen ve besinler yoluyla dışarıdan alınması gereken E vitamini, C vitamini, beta karoten (A vitamini), eser metaller (selenyum, manganez, çinko), flavonoidler, omega-3 ve omega-6 yağ asitleri örnek verilebilir [62,63].

2.4.1. Endojen Antioksidanlar

2.4.1.1. Süperoksit Dismustaz

En etkili hücre içi enzimatik antioksidanlardan biri süperoksit dismustazdır (SOD). Süperoksit dismutaz, yüksek reaktif süperoksit anyonunun O_2'ne ve daha az reaktif tür H_2O_2' ye katalize eden antioksidan enzimdir. Daha sonra hidrojen peroksit katalaz (CAT) veya glutatyon peroksidaz (GPx) enzim reaksiyonları ile yok edilebilir [64].

$$O_2^{\cdot -} + O_2^{\cdot -} + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

2.4.1.2. Katalaz (CAT)

Katalaz, bitkiler, hayvanlar ve aerobik bakterilerin hücrelerinde bulunan bir enzimdir. Katalaz, peroksizom adı verilen bir hücre organelinde bulunur. Katalaz, lipitler, RNA ve DNA gibi moleküllere ciddi hasara neden olabilecek hidrojen peroksit metabolizmasının düzenleyicisidir. Katalaz eksikliği durumunda, yüksek miktarda mitokondri içeren pankreas beta hücresi, fazla miktarda reaktif oksijen türleri (ROS) üreterek oksidatif strese maruz kalır ve böylece beta-hücrelerinin fonksiyonlarında bozukluğa yol açarak diyabete neden olabilir [65]. Katalaz enzimi, hidrojen peroksitin suya ve moleküler oksijene dönüştürülmesini çok verimli bir şekilde teşvik eder. Katalaz, tüm enzimler için en yüksek devir oranlarından birine sahiptir. Bir katalaz molekülü, her dakika 6 milyon hidrojen peroksit molekülünü suya ve oksijene dönüştürerek etkisiz hale getirebilir [66].

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{katalaz}} 2H_2O + O_2$$

Katalaz, normal koşullar altında bazı hücreler için gerekli olmasa da, hücrelerin oksidatif strese tolerans kazanılmasında önemli bir rol oynamaktadır [67].

2.4.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GPx)

Glutatyon peroksidaz (GPx) enziminin iki şekli vardır, bunlardan biri selenyumdan bağımsız, diğeri selenyum bağımlıdır. Bu iki enzim, alt birim sayısı, selenyumun aktif merkezdeki bağlanma niteliği ve bunların katalitik mekanizmaları bakımından farklılık gösterir. Glutatyon metabolizması, antioksidan savunma mekanizmalarının temellerinden biridir. İnsanlarda dört farklı Se-bağımlı glutatyon peroksidaz enzimi vardır. Tüm Glutatyon peroksidaz (GPx) enzimlerinin, selenoller (Se-OH) oluşturarak peroksitleri azaltmak için iki elektron eklediği bilinmektedir. Bu selenoenzimlerin antioksidan özellikleri, fenton reaksiyonu için potansiyel substratlar olarak peroksitleri yok etmelerini sağlar. GPx, yüksek konsantrasyonlarda hücrelerde bulunan tripeptit glutatyon (GSH) ile birlikte hareket eder. GPx' in katalitik reaksiyonu için substrat H_2O_2 veya bir organik peroksit ROOH'dir. GPx, peroksitleri suya (veya alkole) ayrıştırırken, aynı anda tripeptit glutatyon (GSH) yi okside eder. Glutatyon peroksidaz (GPx), bir substrat olarak H_2O_2 için katalaz ile önemli bir şekilde rekabet eder ve düşük oksidatif stres seviyelerine karşı ana koruma kaynağıdır [68].

2.4.1.4. Glutatyon (GSH)

Her yerde bulunan bir tripeptit olan Glutatyon (GSH), birçok hücresel fonksiyonda rol alır. Bunlar arasında protein ve DNA sentezini, enzim aktivasyonu, amino asit taşınımı, ve radyasyon, oksijen radikalleri ve Glutatyon peroksidaz (GPx) katalizli hidrojen peroksitin etkisizleştirilmesi gibi diğer reaktif oksijen ara maddelerin olumsuz etkilerinden hücre koruması yer alır [69].

2.4.2. Eksojen Antioksidanlar

2.4.2.1. Vitamin E

E Vitamini farklı formları bulunan antioksidan potansiyeli yüksek, yağda çözünür bir vitamindir. Vücudun hücre zarlarında bulunur ve genellikle yağ dokusu şeklinde depolanır. Dördü tokoferol ve dört tokrienol olmak üzere toplam sekiz bileşikten oluşur. Tüm bu tipler arasında, yalnızca α-tokoferol insanlarda en biyoaktif formdur. E vitamininin ana etki alanı, lipid peroksidasyonunu önleyerek serbest radikallerin hücre membranlarına zarar vermelerini önlemeleridir. E vitamininin prostat kanseri, meme kanseri ve kolon kanseri gibi çeşitli kanser türlerine karşı etkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, Yaşlanma karşıtı özelliklerinin yanı sıra artrit, katarakt, kalp damar hastalıkları ve nörolojik bozukluklar gibi çeşitli dejeneratif hastalıklara karşı koruma sağlar [70]. E Vitamini ayrıca β-karoten çift bağlarını oksidasyondan korur ve bu nedenle koruyucu bir etki gösterir. E vitaminin daha yüksek oksijen basınçlarında çalışabilmesi nedeniyle serbest radikallerin zararlı etkilerini etkisizleştirmekte ve doku yaralanmasını asgariye indirmektedir. E vitamininin diyet kaynakları bitkisel yağlardır (mısır, aspir, soya fasulyesi, ayçiçeği), buğday tohumu yağı, kepekli tahıllar, fındık, tahıllar, meyveler, yumurtalar, kümes hayvanları, et, vb [71].

2.4.2.2. Vitamin A

A Vitamini, retinolün biyolojik aktivitesine sahip herhangi bir bileşiği tanımlayan genel bir terimdir; “retinoidler” terimi, hem doğal olarak oluşan A vitamini formlarını hem de biyolojik aktiviteye sahip olan veya olmayan birçok sentetik retinol analoğunu içerir. Retinol ve türevleri, oksijen varlığında kararsız olan ve asitlerde yeniden düzenleme ürünlerinin bir karışımını veren hidrofobik bileşiklerdir. A vitamini bitki dünyasında sadece β-karoten gibi öncü bileşikler formunda bulunur. Bu, A vitamini aktivitesine sahip yaklaşık 50 bileşikten oluşan,

doğal olarak meydana gelen büyük bir karotenoid sınıfının bir üyesidir. A vitamininin ana diyet kaynakları, meyve ve sebzelerin provitamin A karotenoidleridir. Bu karotenoidler ayrıca güçlü bir antioksidan işleve sahiptir. Oksidatif stres, enfeksiyon ve kanser gibi hastalıklarla ilgili önemli bir etken olarak ortaya çıktığından, karotenoidlerin antioksidan fonksiyonu, bu molekül ailesinin bir başka ilginç özelliği haline geldi. A Vitamini birçok önemli biyolojik süreçte merkezi bir rol oynar. Görsel süreçte kromofor işlevi on yıllardır tanınmaktadır. A vitamini eksikliği gece körlüğünün önemli nedenlerinden biridir. Ayrıca A vitamini eksikliği veya fazlalığı, epitelyal hücrelerin farklılaşmasını önemli ölçüde değiştirir [72]. A vitamini Güçlü bir antioksidandır ve singlet oksijenin en iyi söndürücüsüdür. Serbest radikal hasarına karşı korur ve lipit bakımından zengin dokuları korur [73].

2.4.3. D Vitamini

D vitamini güneş ışığına maruz kalma veya diyet takviyelerinden elde edilir. Deri güneşin ultraviyole B ışınlarına maruz kaldığında, derideki 7-dehidrokolesterol derhal D_3 vitaminine dönüştürülen previtamin D_3'e dönüştürülür. D vitamini ayrıca, şilomikronun içerdiği diyet D_2 ve D_3 vitaminlerinden de elde edilebilir. Dolaşımdaki D Vitamini, D vitamini bağlayıcı proteine bağlanır ve bu, D-25-hidroksilaz tarafından 25-hidroksivitamin D'ye dönüştürüldüğü karaciğere nakledilir. Biyolojik olarak aktif olmayan 25-hidroksivitamin D, böbreklerde 25-hidroksivitamin D_3 1α-hidroksilaz ile aktif 1,25-hidroksivitamin D'ye dönüştürülmelidir. Son olarak, aktif 1,25-hidroksivitamin D, bağırsak, kemik ve paratiroid bezlerinde D vitamini reseptör-retinoik asit x-reseptör kompleksine bağlanabilir ve daha sonra mineral homeostazisinde klasik işlevini yerine getirebilir. D vitamini, kemik ve mineral metabolizmasının homeostazisinin bir düzenleyicisi olarak kabul edilir, ancak beyin, prostat, meme, kolon, pankreas ve bağışıklık hücreleri de dahil olmak üzere çeşitli dokularda D vitamini reseptörleri bulunduğu için iskelet işlevleri dışında da eylemler sağlayabilir. Kemik metabolizması, bağışıklık tepkisinin modülasyonu ve hücre çoğalmasının düzenlenmesi ve farklılaşması D vitamininin tüm biyolojik fonksiyonlarıdır. D vitamininin kanser, bağışıklık bozuklukları, diyabet, kas

bozuklukları, hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıklar, gibi kardiyometabolik hastalık gibi sağlık durumlarıyla olumlu bir şekilde ilişkili olduğunu göstermektedir. Tip 2 diyabet insidansı dünya çapında artmakta ve insülin direncindeki artışların ardından insülin eksikliğinden veya yetersiz insülin sekresyonundan kaynaklanmaktadır. Bu nedenle D vitamini eksikliğinin diyabetle sonuçlanan insülin direncinde önemli bir rol oynadığı öne sürülmüştür [74].

2.4.4. K Vitamini

K vitamini terimi, kökenlerine ve / veya fonksiyonlarına göre farklılık gösteren, kimyasal olarak benzer bir yağda çözünen bileşik grubunu temsil eder. Doğal olarak oluşan 2 K vitamini formu vardır. Bunlar K_1 vitamini ve K_2 vitaminidir. Aynı zamanda filokinon veya fitoadion olarak da adlandırılan K_1 Vitamini, bitkiler tarafından sentezlenir ve insan diyetindeki baskın K vitamini şeklidir. Fillokinonun ana diyet kaynakları yeşil yapraklı sebzeler (örneğin lahana, maydanoz), Brassica cinsindeki sebzeler (örneğin Brüksel lahanası, brokoli), bazı meyveler (örneğin, avokado, kivi ve yeşil üzümler), bazı otlar (maydanoz ve kişniş) ve yeşil ve bitkisel çaylar. Diğer diyet kaynakları, soya fasulyesi, kanola ve zeytinyağları gibi bitki yağlarıdır. Fillokinon yeşil yapraklı sebzelerin bitki hücre zarlarına sıkıca bağlanır ve bitki yağlarında veya diyet takviyelerinde bulunan fillokinondan daha az biyoyararlanabilir Dihidrofillokinon, başka bir diyet fillokinon şeklidir ve bu kısmen hidrojenlenmiş yağlarda bulunur. Dihidrofillokinon fillokinon ile karşılaştırıldığında daha düşük biyoyararlanıma ve biyolojik aktiviteye sahiptir [75]. K_2 Vitamini, menaquinones-n (MK-n) olarak adlandırılan bir dizi K vitamini formunu içerir, burada n, tekrarlayan 5 karbon birimlerinin sayısını gösterir. Menakinonlar, MK-4 (veya menatetrenon) hariç, öncelikle bakteriler tarafından üretilir. Gıda kaynaklarından elde edilen düşük biyoyararlanıma rağmen, MK-4 vücuttaki en önemli K vitamini şeklidir [76].

K vitamini eksikliği, karaciğer hastalığı, pankreas veya safra hastalığı, kistik fibroz, yağ malabsorpsiyon bozuklukları, bağırsak bozuklukları (çölyak hastalığı, ülseratif kolit, bölgesel enterit, kısa bağırsak sendromu ve özellikle yağda çözünen

vitaminlerin emildiği terminal ileumun bağırsak rezeksiyonu), kronik malnütrisyon, alkol bağımlılığı ve K vitamini antagonisti antikoagülanlar gibi ilaçlar sonucunda ortaya çıkabilir. K vitamini eksikliği kanama riskini artırır ve kemik sağlığı üzerinde zararlı etkileri olabilir. K vitamininin vücuttaki rolü uzun zamandır kan pıhtılaşması ve pıhtılaşma ile ilişkilendirilmiştir. Daha yakın zamanlarda, kemik ve yumuşak doku kalsifikasyonunun düzenlenmesi, hücre büyümesi ve çoğalması, iltihaplanma, çeşitli oksidatif fosforilasyon süreçteki rolü tanımlanmıştır [77].

2.5. Lipid Peroksidasyonu

Oksidatif stres ve biyomoleküllerin oksidatif modifikasyonu yaşlanma, ateroskleroz enflamasyonu ve karsinojenez ve ilaç toksisitesi gibi bir dizi fizyolojik ve patofizyolojik proseste yer almaktadır. Lipid peroksidasyonu, ikinci haberci olarak işlev görebilen veya diğer biyomolekül ile doğrudan reaksiyona girebilen ve biyokimyasal lezyonları arttıran ikincil serbest radikal kaynağı içeren serbest radikal bir işlemdir. Lipid peroksidasyonu, hücre zarlarında bulunan polisatüre yağ asidi üzerinde meydana gelir ve ayrıca radikal zincir reaksiyonu ile ilerler. Hidroksil radikalinin ROS'u başlattığı ve hidrojen atomunu çıkardığı ve böylece lipit radikalini ürettiği düşünülmektedir. Ayrıca, oksijen ilavesiyle peroksil radikali meydana getirir. Bu yüksek oranda reaktif radikal, lipit hidroperoksiti (LOOH) ve yeni bir radikal oluşturan başka bir yağ asidine saldırır. Böylece lipid peroksidasyonu yayılır. Lipid peroksidasyonundan dolayı, örneğin alkanlar, malondialdehit ve izoprotanlar gibi birçok bileşik oluşur. Bu bileşikler lipid peroksidasyon analizinde belirteç olarak kullanılır ve nörojeneratif hastalıklar, iskem reperfüzyon hasarı ve diyabet gibi birçok hastalıkta etkileri olduğu doğrulanmıştır [78].

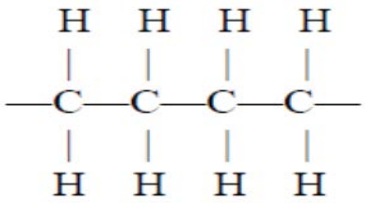
2.6. Yağ Asitleri

Yağ asitleri, bir metil uç, bir hidrokarbon zinciri (R) ve bir karboksilik terminal içeren tipik bir RCOOH yapısına sahip olan karboksilik asitlerdir. Yağ asitleri insanlarda ve diğer organizmalarda birden fazla rol oynamaktadır. En önemlisi,

proteinler ve karbonhidratlar ile birlikte biyolojik maddenin üç ana bileşeninden biri olan lipidlerin önemli bir parçasıdır. Yağ asitleri ayrıca insanlar için toplam enerji alımının yaklaşık % 30'unu içeren önemli enerji substratlarıdır. Özellikle yağ ve enerji alımının artması obeziteye neden olduğunda, yağ dokusunda fazla miktarlarda depolanabilirler. Yağ asitleri 2 ila 36 karbon atomu arasında değişen karbon zincirleri içerirler ve doymuş veya doymamış yağ asitleri olarak 2 grupta incelenirler[79].

2.6.1. Doymuş Yağ Asitleri

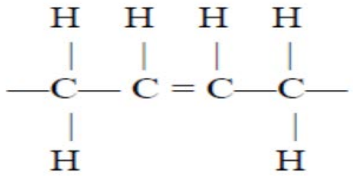
Karbon atomları arasında tek bir kovalent bağ (-C-C-) bulunduran genellikle hayvansal kaynaklı olan ve oda sıcaklığında katı olan yağ asitlerine doymuş yağ asitleri denir. Doymuş yağ asitlerinden oluşan yağlarda doymuş yağlar olarak isimlendirilir (şekil 2.2) [80].



Şekil 2.2 Doymuş yağ asidi tekli kovalent bağlar [80].

2.6.2. Doymamış Yağ Asitleri

Karbon atomları arasında bir veya daha fazla kovalent çift bağ içeren yağ asitlerine doymamış yağ asitleri denir. Doymamış yağ asitleri bakımından zengin yağlarada doymamış yağlar denir. Bünyelerinde bulundurdukları çift bağlar nedeniyle doymuş yağ asitlerine nazaran oldukça reaktiftirler. Bu reaktif olma durumu yapılarındaki çift bağ sayısına göre artış gösterir. Oda sıcaklığında sıvı olan bu yağ asitleri insan vücüdu için mutlaka gerekli olan yağ asitlerindendir. Çoğunlukla bitkisel kaynaklıdırlar (şekil 2.3) [81].



Şekil 2.3 Doymamış yağ asiti çiftli bağlar [80]

2.6.3. Yağ Asiti Biyosentezi

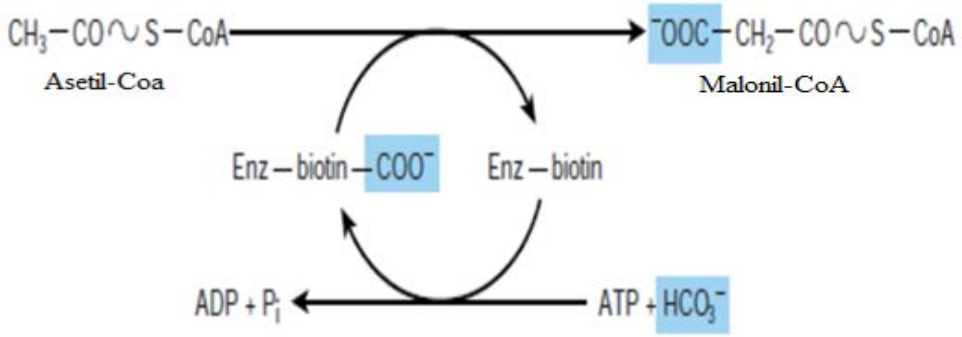
Yağ asitleri, sitozoldeki asetil-Coa'dan palmitatın tam sentezinden sorumlu olan bir ekstramitokondriyal sistem tarafından sentezlenir. Çoğu memelide glikoz, lipogenez için birincil substrattır. Lipogenezisin inhibisyonu, tip 1 diabetes mellitusta meydana gelir ve aktivitesindeki değişiklikler, obezitenin doğasını ve derecesini etkiler. Hücre zarının fosfolipidlerindeki doymamış yağ asitleri, zar akışkanlığının korunmasında önemlidir. Diyetteki yüksek oranda çoklu doymamış yağ asitlerinin doymuş yağ asitlerine oranının koroner kalp hastalıklarının önlenmesinde yararlı olduğu düşünülmektedir. Hayvan dokuları, yağ asitlerini desatürasyonu (çiftli bağ oluşturma) için sınırlı kapasiteye sahiptir ve bitkilerden elde edilen belirli diyet çoklu doymamış yağ asitlerini gerektirir. Bu esansiyel yağ asitleri, eikosanoidlerin prostaglandinlerine, tromboksanlarına, lökotrienlere ve lipoksinlere yol açan eikosanoik (C20) yağ asitlerini oluşturmak için kullanılır. Prostaglandinler, iltihaplanma, ağrıya aracılık eder ve uykuyu tetikler ve ayrıca kan pıhtılaşmasını düzenler. Lökotrienler kas kasılması ve kemotaktik özelliklere sahiptir ve alerjik reaksiyonlar ve inflamasyonda önemlidir [82].

Yağ asitlerinin de novo sentezi için ana yol sitozolde oluşur. Bu sistem, karaciğer, böbrek, beyin, akciğer, meme bezi ve yağ dokusu dâhil olmak üzere birçok dokuda mevcuttur. Bu sistemin kofaktör gereksinimleri NADPH, ATP, Mn^{+2}, biotin ve HCO_3^- (CO_2 kaynağı olarak) içerir. Bu yolda asetil-CoA substrattır ve serbest palmitat ise son üründür [82].

Asetil-CoA, yağ asitlerinin ana yapı taşıdır. Asetil-CoA, mitokondri içinde piruvatın oksidasyonu yoluyla glikozdan oluşur. Bununla birlikte, yağ asidi sentezinin ana bölgesi olan ekstramitokondriyal sitozolün içine kolayca dağılmaz.

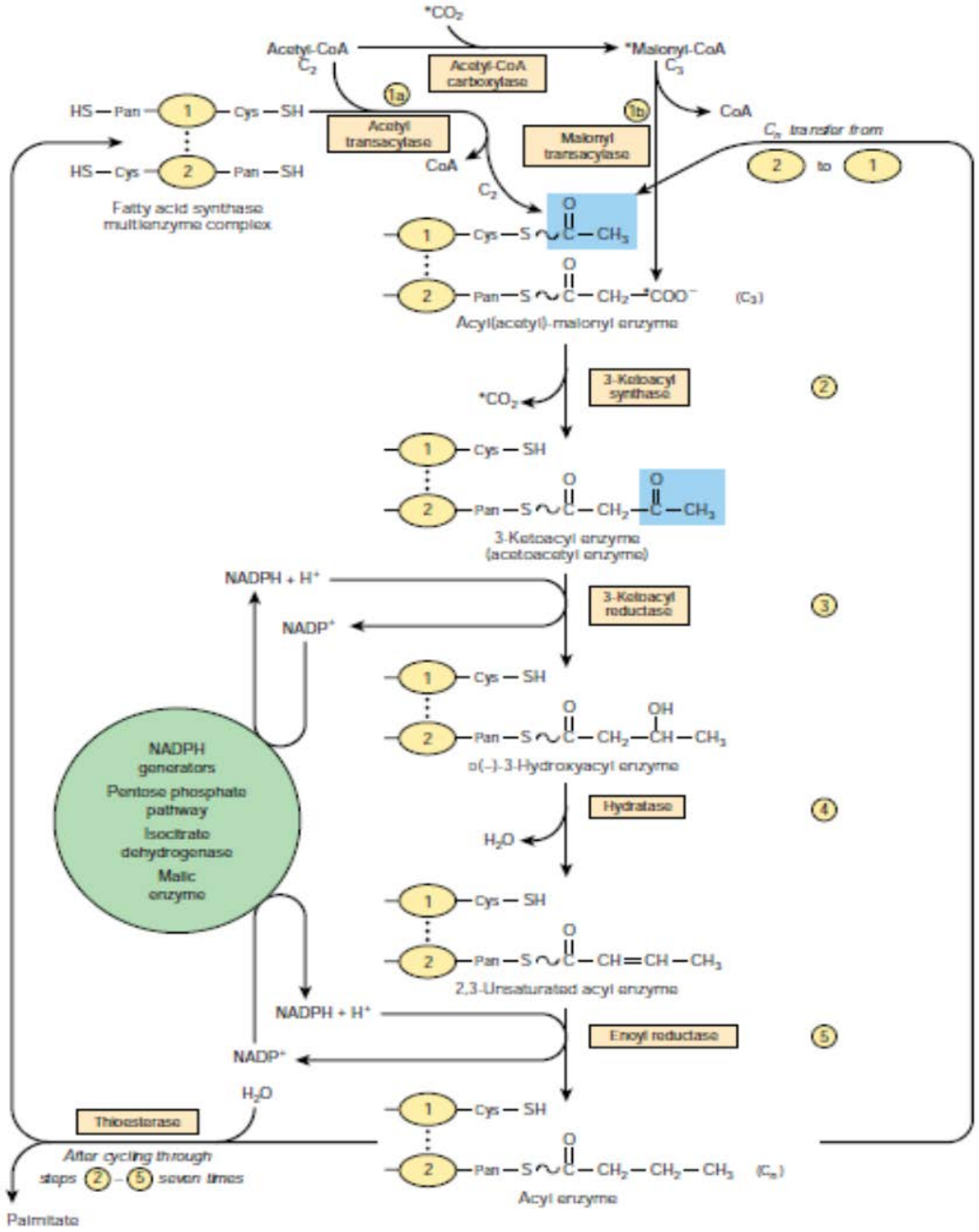
Mitokondri içindeki sitrik asit döngüsünde oksaloasetat ile asetil-CoA'nın yoğunlaşmasından sonra oluşan sitrat, trikarboksilat taşıyıcı vasıtasıyla sitoplazmaya geçirilir; sitoplazmaya geçen sitrat burada ATP harcanarak parçalanır ve tekrar asetil- CoA ya dönüştürülür [82].

Asetil-CoA sitoplazmada asetil-CoA karboksilaz enzimi katalizörlüğünde malonil-CoA'ya dönüştürülür. Malonil-CoA üretimi, yağ asidi sentezinde ilk ve kontrol basamağıdır. ATP ve asetil-CoA karboksilaz varlığında asetil-CoA'nın malonil-CoA'ya karboksilasyonu için ilk reaksiyonda bikarbonat iyonları CO_2 kaynağı olarak kullanılır. Asetil-CoA karboksilaz enziminin kofaktör olarak biyotine (B vitamini) gereksinimi vardır. Bu enzim, her biri biyotin, biyotin karboksilaz, biyotin karboksil taşıyıcı protein ve transkarboksilaz ve aynı zamanda düzenleyici bir allosterik grubu içeren değişken sayıda özdeş alt birim içeren bir multienzim proteinidir. Bu reaksiyon iki adımda gerçekleşir: Birinci basamak biotin karboksilasyonu (ATP gerektirir) ve ikinci basakta ise karboksil grubunun asetil-CoA ya transfer edilerek Melonil-CoA oluşturulması (şekil 2.4) [82].



Şekil 2.4 Malonil-CoA'nın biyosentezi [82].

Malonil-CoA'nın olusmasıyla yag asidi sentetaz enzimi aktifleşir. İnsülin hormonu tarafından aktifleştirlen yag asidi sentetaz enziminin aktivitesi sonucunda asetil-CoA ile baslayan sentez reaksiyonları sonucunda 16 C'lu palmitoil CoA ve sonrasında palmitik asit (16:0) olusur. Bu olay lipogenez olarak adlandırılır (şekil 2.5) [82].



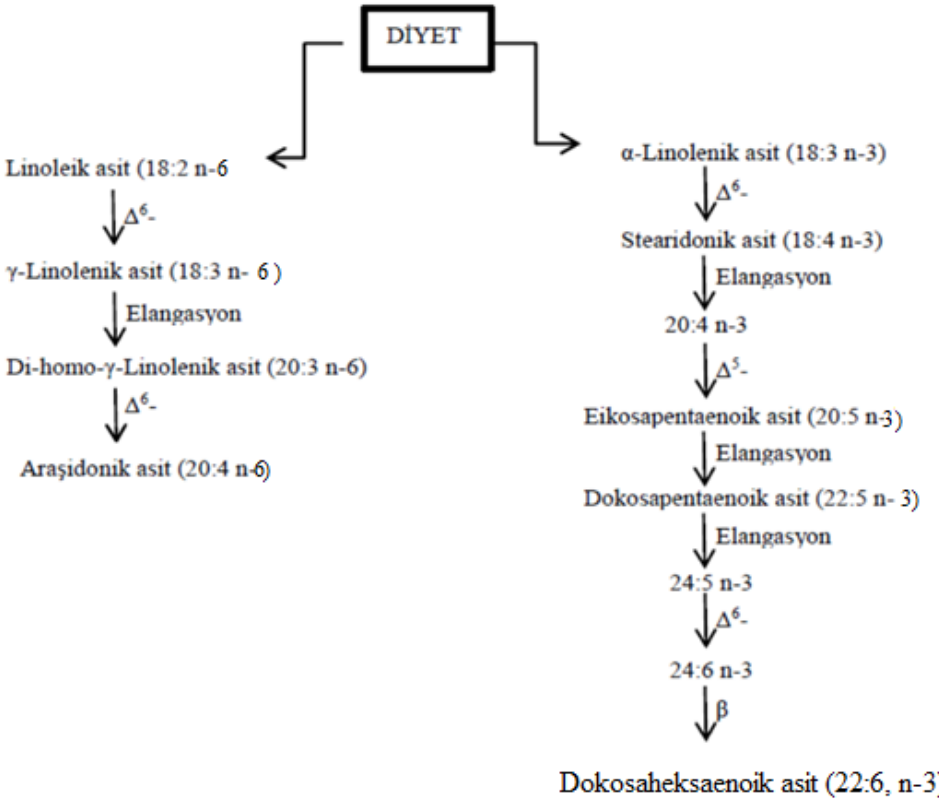
Şekil 2.5 Uzun zincirli yağ asitlerinin biyosentezi. Bir malonil kalıntısı ilavesinin açil zincirinin iki karbon atomu tarafından büyümesine neden olduğuna dair detaylar [82].

Çoğu yağ asiti, iki karbon biriminden sentezlendiklerinden eşit sayıda karbon atomuna sahiptir. Spesifik olarak, yağ asitleri, asil taşıyıcı protein, NADPH ve asetil-CoA-karboksilaz yardımı ile iki karbon öncüsünden sitoplazmada geçici olarak

sentezlenir. Mitokondride β-oksidasyon ile bozunmalarına enerji salınımı eşlik eder. Hayvansal ve bitkisel dokularda, en bol bulunan yağ asitleri, 16 ve 18 karbon atomlu olan palmitik asit, stearik asit, oleik asit ve linoleik asittir. Memeli organizmalardaki yağ asitleri, 0-6 çift bağ ile 12-24 karbon atomunun zincir uzunluğuna ulaşır. Bununla birlikte, zincir uzunlukları 14 ten kısa ve 22 karbon atomundan daha uzun olan yağ asitleri sadece küçük konsantrasyonlarda bulunur. Bitki ve hayvanlardaki yağ asitlerinin yaklaşık yarısı doymamış ve 1-6 çift bağ içermektedir. Yağ asitleri, insanlarda bazı enzimlerin bulunmaması nedeniyle Δ9 pozisyonuna kadar endojen olarak desatüre edilebilir (Δ 12- ve Δ 15-desatürazlar). Bu nedenle linoleik (18:2, n-6) ve α-linolenik (18:3, n-3) asitleri diyetten alınmalıdır [79].

2.6.4. Esansiyel Yağ Asitleri

Esansiyel yağ asitleri tüm hücre zarlarının önemli bileşenleridir. Esansiyel yağ asitleri, membranların akışkanlık özelliklerini belirler ve bu nedenle, zara bağlı enzimlerin ve reseptörlerin davranışını etkiler. Esansiyel yağ asitleri insanların ve diğer memelilerin hayatta kalması için esastır ve vücutta sentezlenemezler bu nedenle çok önemlidirler ve besinlerle mutlaka alınmaları gerekir [83]. Bu esansiyel yağ asitleri α-linolenik asit (18:3, n-3), ve linoleik (18:2, n-6) ve araşidonik (20:4, n-6) asittir. Bu esansiyel yağ asitleri mısır, ayçiçeği, keten ve kanola gibi bitkilerde ve balıklar gibi su ürünlerinde bol miktarda bulunurlar. Memelilerde omega-1 metil grubu ile omega-7 metil gruplarının karbon atomu arasında çift bağ oluşturan enzim bulunmaz bu nedenle memeliler ve insanlar n-3 ve n-6 serisi doymamış yağ asitlerini sentezleyemezler. Fakat insan ve memeliler besinlerle α-linolenik asit (18:3, n-3), ve linoleik (18:2, n-6) asit alırsa, linoleik asitten karbon zincirinin uzatılması ve çift bağ sayısının arttırılması sonucu araşidonik yağ asidi (20:4, n-6), n-6 serisi yağ asidini sentezleyebilirler. Ayrıca besinlerle alınan α-linolenik asitten ise eikosapentaenoik asit (20:5, n-3), dokosapentaenoik asit (22:5, n-3) ve dokosaheksaenoik asit (22:6, n-3) gibi n-3 serisi yağ asitleri sentezlenebilmektedir (şekil 2.6) [84].



Şekil 2.6: İnsan ve memelilerde α-linolenik asit (18:3, n-3), ve linoleik (18:2, n-6) asitten n-3 ve n-6 Serisi doymamış yağ asitlerinin Sentezi [84].

Omega-3 ve omega-6 yağ asitleri uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitleridir ve insan vücudu bunları sentezleyemez. Bu nedenle besinlerle beraber alınmaları gerekir. Omega-3 yağ asitleri balık yağlarında, alg, ceviz, fındık yağı ve keten tohumu bulunabilir [85]. Üç ana omega-3 yağ asidi vardır: eikosapentaenoik asit (EPA), dokosaheksaenoik asit (DHA) ve α-linolenik asit (ALA). eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosaheksaenoik asit (DHA) balıklarda bol miktarda bulunur ve doğrudan vücut tarafından kullanılır; α-linolenik asit (ALA) fındıkta bulunur ve yukarıda açıklandığı gibi vücut tarafından eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosaheksaenoik asite (DHA) dönüştürülür. Omega-6 yağ asitlerinin (linoleik asit) diyet kaynakları arasında bitkisel yağlar, kuruyemişler, tahıllar, yumurtalar ve kümes hayvanları bulunur. Bu iki madde sağlığı teşvik etmek için birlikte çalıştığından, diyette uygun bir omega-3 ve omega-6 dengesini korumak önemlidir [71].

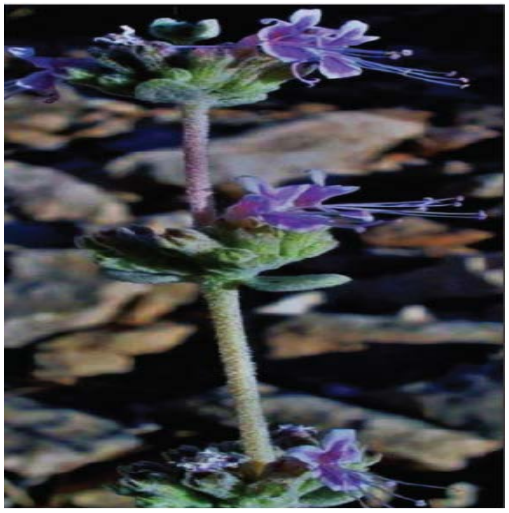
Omega-3'ler, iltihabı azaltır ve kalp hastalığı, felç, hafıza kaybı, depresyon, artrit, katarakt, kanser gibi kronik rahatsızlıkları önler. Omega-6'lar diyabetik

nöropati, egzama, sedef hastalığı, osteoporoz ve kanser tedavisine yardımcı olur [71,86].

Diabetes mellituslu hayvanlar ve insanlar üzerinde yapılan araştırmalarda esansiyel yağ asitlerinin normal metabolizmasının bozulması sonucu oluşan esansiyel yağ asiti yetersizliğinin diyabetin önemli bir nedeni olduğuna dair kanıtlar bulunmuştur. Ana diyet esansiyel yağ asitleri, n-6 serisinin linoleik asit ve n-3 serisinin alfa-linolenik asit, her ikisi de 6-desatürasyonlu olmalı ve vücut üzerinde arzu edilen tüm etkilerini uygulamak için ise daha fazla metabolitlere dönüştürülmelidir. Diyabette 6-desatürasyonlu metabolitlerin yeterli oranda oluşma eksikliği, membran fonksiyonundaki anormalliklerde, lipit metabolizmasında, homeostazda ve diyabette görülen mikro komplikasyonlara yol açabilir [87]. Δ6 desaturaz enzimi ve Δ5 desaturaz enzimleri linoleik asiti (18:2, n-6) gamma linoleik asite (18:3, n-6) ve ileri metabolitler olan araşidonik asite (20:4, n-6) ve eikosotrienoik asite (20:3, n-3) dönüştürür. Bu enzimler ayrıca α- linolenik asiti (18:3, n-3) eikosapentaenoik asit (20:5, n-3) ve dokosaheksaenoik asit (22:6, n-3) yağ asitlerine dönüştürür. Yapılan araştırmalarda diabetes mellituslu hayvanlarda Δ6 desaturaz enziminin yetersiz olduğu saptanmıştır. Bu nedenle diyabetes mellituslu hayvanlarda linoleik asit ve α-linolenik asitleri ileri metabolitlerine dönüştürülemediklerinden bu yağ asitlerinden oluşan ileri metabolitlerin oranı normalin altına düşer. Diyabetli hayvanlarda esansiyel yağ asidi ihtiyacının artması sonucu hasta hayvanlarda böbrek, kardiyovasküler sistemde hastalıkları, retina hasarları ve çevresel sinir sisteminde hasara yol açarak komplikasyonlar oluşur. Diyabet sonucu gelişen bu komplikasyonların oluşumunda reaktif oksijen moleküllerinin artması sonucu aşırı doymamış yağ asidi metabolizmasının bozulması önemli etkendir. Çünkü diyabetik hayvanlarda oksidatif strese yol açan reaktif oksijen moleküllerinin ilk saldırdıkları moleküller aşırı doymamış yağ asitleridir. Atherosklerozis ve trombozis ise esansiyel yağ asitleri yetersizliğine bağlı olarak meydana gelen ve ölümle sonuçlanan önemli diyabet komplikasyonları arasında yer alır [88].

2.7. Dağ Nanesi (*Cyclotrichium niveum*)

Sınırlı ve dar bir alanda yayılış göstermekte olan endemik bitkiler geleneksel tıpta sürekli ilgi odağı olmuştur. Ülkemizde bulunan önemli endemik türlerden bir tanesi de keskin kokusuyla varlığını sürdüren antioksidan özelliklere sahip, Labiatae ailesinin bir üyesi olan *Cyclotrichium niveum*'dur. Halk arasında 'dağ nanesi' olarak bilinen *Cyclotrichium*, Türkiye'ye özgü yıllık bir bitkidir. Türkiye'de *Cyclotrichium niveum, Cyclotrichium origanifolium, Cyclotrichium stamineum, Cyclotrichium leucotrichum, Cyclotrichium glabrescens* olmak üzere beş türle temsil edilir. Bu türlerden *Cyclotrichium niveum, Cyclotrichium origanifolium* Türkiye'ye endemiktir (resim 2.1)[89].



Resim 2.1 *Cyclotrichium niveum* [90]

Son yıllarda yapılan bazı araştırmalarda *Cyclotrichium niveum* 'in kimyasal bileşimi üzerine çalışmalar yapılmıştır. Pulegon ve isomenthone içerdiği [91,92]. Ayrıca flavonoidler ve triterpenoidlerin tespiti de yapılmıştır. Baser ve ark. tarafından *Cyclotrichium niveum* içeriğinde ilk kez esansiyel yağlar tespit edilmiş olup, halk arasında bitkisel çay olarak kullanıldığı bilinmektedir [93, 94].

Yapılan literatür araştırmalarında *Cyclotrichium niveum* ile ilgili genel olarak çok az çalışma yapıldığı tespit edilmiş olup in vitro olarak bazı biyokimyasal parametrelerin ölçümü yapıldığı görülmüştür. Bu endemik bitkinin in vitro olarak antioksidan, antimikrobiyal ve antifungal aktivitelerinin olduğu belirtilmiştir [89]. *Cyclotrichium niveum* bitki ekstraktının ratlarda beyin ve böbrek dokularındaki etkilerine dair in vivo olarak herhangi bir çalışmanın mevcut olmadığı tespit edilmiştir.

2.8. Deneysel Diyabet Oluşturulması

Günümüzde deney hayvanlarında çeşitli kimyasal ajanlar kullanılarak deneysel diyabet oluşturmak mümkündür. STZ veya alloxan kullanılarak deney hayvanlarında tip 1 diyabet oluşturulabilinmektedir. 1960 yılında pankreasın beta hücrelerine karşı streptozotosinin spesifik toksik etkiye sahip olduğu ortaya konmuş olup 1969 ve 1970 yılında yapılan çalışmalarla streptozotosinin deney hayvanı modellerinde diyabet oluşturulmada diyabetik ajan olarak kullanılabileceği ortaya konmuştur [95, 96].

İnsülin salgılayan pankreasın beta hücrelerine spesifik toksisiteleri nedeniyle diyabetojenik ajan olarak kabul edilmektedirler. Pankreasta serbest radikal temizleyicisi (scavenger) olan superoksit dizmutaz STZ tarafından inhibe edilerek serbest radikallerin birikmesine neden olur. Serbest radikallerin birikmesiyle oksidatif stresin artması sonucu pankreasın beta hücreleri yıkıma uğrar ve insülin salınımı azalarak kan glikoz düzeyinin artmasıyla tip 1 diyabetin oluşmasına neden olur [95, 97].

STZ kullanımı kan şekeri düzeyinde üç fazlı etki oluşturur. İlk 2 saat içinde kan şekeri karaciğer glikojeninin ani yıkımı nedeniyle yükselir. İkinci fazda beta hücreleri hasara uğrayarak hızla insülin salınımına yol açar ve kan insülin düzeyi hızla yükselir. Kan glukoz düzeyi düşer ve hatta ölümle sonuçlanabilir. Üçüncü faz kalıcı hiperglisemik faz olup kullanılan STZ'nin dozuna bağlı olarak insülin değeri düşer ve kan glukoz değeri artar [95, 98, 99].

Reaktif oksijen türlerinin kaynağını oluşturan oksijen moleküllerinen yaklaşık % 2'si indirgenerek süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot -}$) oluşturur. Süperoksit dismutaz enzimi tarafından süperoksit anyonu ($O2^{\cdot -}$) hidrojen perokside (H_2O_2) dönüştürülür. Hidrojen peroksit (H_2O_2) normal şartlarda hücreye radikal düzeyde zarar veremez. Fakat Fe^{++} ile Cu^{++} gibi metal iyonlarının varlığında hücre ortamında kalması durumunda hücrenin yapısında yer alan proteinler, lipitler, karbonhidratlar ve genetik materyale zarar verici hidroksil radikalinin ($OH^{\cdot}$) en önemli kaynağını oluşturmaktadır [100,101].

Serbest radikallerin düzeylerinin aşırı artmasıyla beraber antioksidanların düzeyi azalır ve serbest radikallerle antioksidan savunma sistemi arasındaki hassas denge bozularak hücre membranlarındaki fosfolipidlerde bulunan yağ asitlerinin peroksidasyonuna yol açarak hücrelerde oksidatif hasara neden olmaktadır. Tip 1diyabette lipit peroksidasyonu oldukça önemlidir. Çünkü bu hasara bağlı olarak ilerleyen süreç sonunda çeşitli yapısal ve fonksiyonel bozukluklar ortaya çıkar [101,102]. Oksidatif stres ve oksidatif hasarın diyabet, iskemik reperfüzyon, hipertansiyon, inflamasyon, yaşlanma, karsinojenez, ateroskleroz, mutagenez, ürolojik, immünolojik, nörolojik, hastalıklar ve karaciğer, sindirim sistemi, deri, göz ve akciğer hastalıkları üzerinde bir takım etkilerinin mevcut olduğu bildirilmiştir [103-105].

Antioksidanlar düşük konsantrasyonlarda dahi oksidatif stres durumlarının azaltılmasında önemlidir. Günümüzde bitkisel antioksidanlar insan ve hayvanlar tarafından kullanılmaktadır. Birçok bitki türleri doğal antioksidanların araştırılmasında önerilmektedir. Bitkilerin antioksidan aktivitesi ve buna bağlı olarak içerdiği fenolik bileşikler önemlidir [100,106]. Özellikle halk sağlığı yönünden diyabette, endokrin bozucu ve oksidatif stres oluşturabilen maddelerin meydana getirdiği patofizyolojik etkilerin azaltılması yönünde doğal bitkisel ürünlerin etki potansiyelinin belirlenmesi önem arz etmektedir.

2.9. Araştırmanın Amacı

Araştırmamızda Stz uygulanan sıçanlarda meydana gelen oksidatif stres sonucu oluşturulan tip 1 diyabete karşı, dağ nanesi (*Cyclotrichium niveum*) ekstratnın beyin ve böbrek doku örneklerinin lipofilik vitaminler, malondialdehit ve esansiyel yağ asitleri üzerine etkilerini araştırmayı amaçladık.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışma; Adıyaman Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu başkanlığının 28.12.2018 tarihli, 2018/033 protokol numaralı etik kurul onayı ile standart deneysel hayvan çalışmaları etik kurallarına uygun olarak Adıyaman Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim Uygulama ve Araştırma Merkezinde yapılmıştır.

Araştırmada 32 adet yetişkin, 250-300 gr ağırlığında dişi Wistar albino sıçan kullanılmıştır. Çalışma her grupta 8 sıçan kullanarak gerçekleştirilmiştir.

1. Kontrol grubu (K) :
2. Diyabet grubu (D) 55 mg/kg STZ
3. Dağ nanesi (*Cyclotrichium niveum*) ekstraktı grubu (DN) 4 ml/kg
4. Diyabet+Dağ nanesi grubu (D+DN) 55 mg/kg STZ + 4 ml/kg DN

Kontrol grubu standart diyetle beslenerek % 0,9 luk serum fizyolojik uygulandı, diyabet gurubuna STZ uygulaması Guvenç ve arkadaşlarının uyguladığı metoda göre yapılmıştır [107]. Buna göre, uygulama grubuna intraperitonal olarak 55 mg/kg STZ (55 ml sitrik asit + 35 ml disodyum hidrojen fosfat tampon çözeltisinde çözüldü) tek doz intraperitoneal (i.p) olarak enjekte edildi. STZ uygulandıktan sonra 72. saatte kuyruk veninden alınan kan glukoz seviyeleri ölçüldü ve 180-200 mg/dl'nin üzerindeki değerler diyabetik olarak kabul edildi. Dağ nanesi gurubuna *Cyclotrichium niveum* bitkisinin ekstraktı Pandanaboina ve arkadaşlarının belirttiği metoda benzer şekilde hazırlandı [108]. Bu bitki ülkemizde yerel halk tarafından çay olarak da tüketilmekte olup, dağ nanesi olarak bilinmektedir. Bu nedenle sıcak suda (100 ml), kurutulmuş 20 gr *Cyclotrichium niveum* bitkisi yaprağı demlemeye bırakılmıştır. Karışım soğuduktan sonra süzülerek elde edilen *Cyclotrichium niveum* ekstraktı 4^0C'de kapalı kaplarda saklanarak 4 ml/kg olarak oragastrik olarak verildi. Diyabet + dağ nanesi gurubuna 55 mg/kg STZ intraperitoneal olarak uygulandı ve *Cyclotrichium niveum* bitkisinin ekstraktı 4 ml/kg olarak oragastrik olarak verildi. 6.

Haftanın sonunda hayvanlar dekapite edildi. Beyin ve böbrek doku örnekleri alüminyum folyo içerisine alınarak etiketlendi ve analize kadar – 80 ^{0}C de bekletildi.

MDA miktarı thiobarbiturik asit reaktif türlerinin konsantrasyonuna göre HPLC' ölçüldü [108]. Ayrıca dokularda total lipit numunelerinden metil eserlerine dönüştürülerek yağ analizleri gaz kromatografisi ile yapıldı. Dokulardaki total lipit ekstraksiyonu için, 3:2, v/v oranındaki hekzan/izopropanol karışımı metodu kullanıldı [109]. Total lipit içindeki doymuş ve doymamış yağ asitlerinin miktarları yağ asitlerinin uçucu formlarına dönüştürülerek gaz kromatografi cihazıyla belirlendi [110]. Kolesterol tayini ve ADEK vitaminleri HPLC'de yapıldı [111].

3.2. ADEK Vitaminlerinin Analiz Metodu

A,D,E,K vitaminlerin analizleri için 1 gr beyin ve böbrek dokuları alınıp tartılarak üzerine 3/2 (600/400,v/v) oranında hazırlanan hekzan/izopropanol çözeltisinden 10 ml eklenerek homojenizatör cihazı ile homojenize edildi. Homojenize edilen doku 15 ml'lik santrifüj tüplerine alınarak 5000 rpm, 4 ºC'de 10 dakika santrifüj edilerek doku pelletinden ayrıldı. Süpernatant kısmın çözücüsü sıvı azot akımı ile uçuruldu ve 1 ml asetonitril/metanol karışımı (50/50) ile çözülerek otosampler viallerine alınarak HPLC cihazında analiz edildi. A,D,E,K vitaminlerin analizleri için 3/2 (600/400) oranında asetonitril/metanol çözeltisi mobil faz olarak hazırlanmıştır. Mobil fazın 1 dakikada akış miktarı 1 ml/dakika olarak belirlendi. Kolon sıcaklığı 40 ºC de tutuldu [111]**.** Analiz için supelcosil LC 18_ (150 x 4.6 mm, 5 µm) kolon kullanıldı. Analiz UV dedektörde yapıldı ve dalga boyu; vitamin E için 202 nm, retinol (vitamin A) için 326 nm olarak belirlendi. Analiz sonucunda bulunan kolesterol ve A,D,E,K vitaminlerin miktarı µg/g olarak hesaplandı. Cihazda pompa olarak LC-10ADVP, UV dedektör olarak SPD-10AVP, kolon fırını olarak CTO-10ASVP, otosampler olarak SIL-10ADVP, degasser olarak DGU-14AVP üniteleri (Shimadzu, Kyoto Japan) kullanıldı. Analiz sonucunda bulunan moleküllerin miktarı µg/g olarak hesaplandı.

3.3. Lipitlerin Ekstraksiyonu

Beyin ve böbrek dokularının içindeki lipitlerin ekstraksiyonu Hara ve Radin metoduna göre yapılmıştır [109]. Bunun için 1 gr beyin ve böbrek dokusu 3/2 (v/v) oranında 5 ml hekzan izopropanol çözeltisi içinde 30 sn süre ile homojenizatörde homojenize edildi. Her örnek homojenize edileceği zaman homojenizasyon kabı ve homojenizatör 2 ml hekzan izopropanol çözeltisi ile yıkanarak temizlendi. Daha sonra 10 dakika 5000 rpm'de santrifüj edilerek doku örneklerinin supernatant kısmı alınarak ağzı kapalı deney tüplerine konuldu.

3.4. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Hazırlanması

Lipitlerin yapısında bulunan yağ asitlerinin gaz kromatografik analizlerinin yapılabilmesi için kararlı yapıya sahip olan metil esterleri türevlerine dönüştürülmesi için Christine metodu kulaanıldı [112]. Metil esteri türevlerinin hazırlaması için: Hekzan/izopropanol fazı içindeki lipit ekstrakı 20 ml'lik deney tüplerine alınıp, üzerine 5 ml % 2'lik metanolik sülfirik asit ilave edilip vorteksle karıştırıldı. Karışım 55 ^{0}C'lik etüvde 15 saat metilleşmeye bırakıldı. Daha sonra tüpler etüvden alınarak oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi ve 5 ml % 5'lik NaCl (sodyum klorür) ilave edilerek vorteksle karıştırıldı. Oluşan yağ asidi metil esterleri 5 ml hekzan ile ekstrake edildi ve hekzan fazı pipetle alınarak 5 ml % 2'lik $KHCO_3$ ile muamele edildi ve fazların ayrılması için 10 saat bekletildi. Daha sonra metil esterlerini içeren karışımın, sıvı azot akımı ile çözücüsü uçuruldu, sonra 1 ml hekzan ile çözülerek 2 ml'lik ağzı kapalı otosamplar içine alınarak gaz kromatografisinde analiz edildi.

3.5. Yağ Asidi Metil Esterlerinin Gaz Kromatografik Analizinin yapılması

Lipit ekstraktı içindeki yağ asitleri metil esterlerine dönüştürüldükten sonra SHIMADZU GC-2010 Plus Serisi (Serial number: C118050068535A) gaz kromatografisi ile analiz edildi. Bu analiz için 25 m uzunluğunda, 0,25 μm iç çapında ve PERMABOND 25 mikron film kalınlığına sahip Machery-Nagel (Germany)

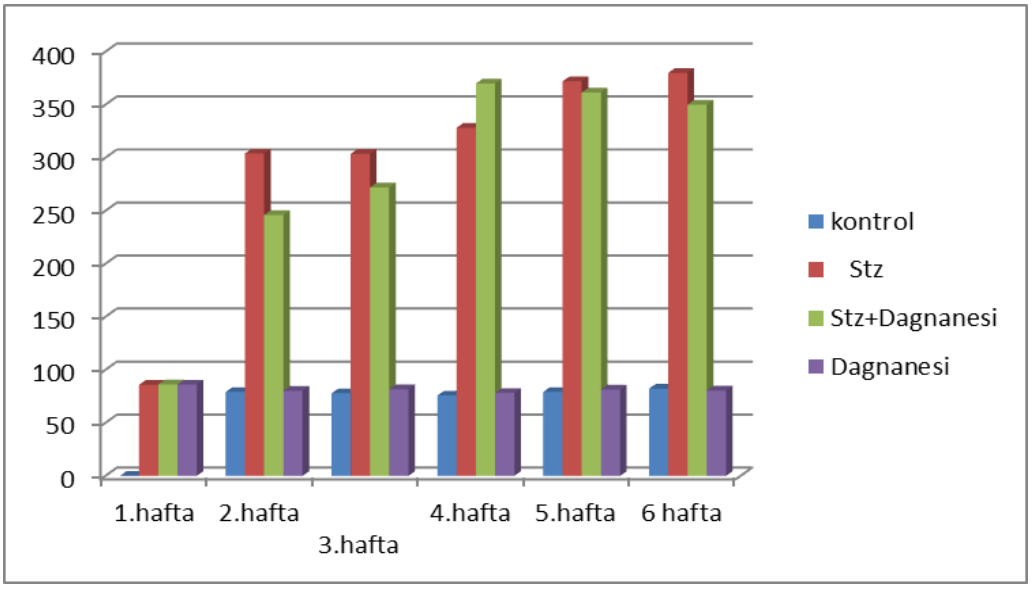
kapiller kolon kullanıldı. Analiz sırasında kolon sıcaklığı 120-220 °C arasında programlandı. Enjeksiyon sıcaklığı 240 °C ve dedektör sıcaklığı 280 °C olarak tutuldu. Kolon sıcaklık programı 120 °C'den 220 °C'ye kadar ayarlandı. Sıcaklık artısı 200 °C'ye kadar 5 °C /dk ve 200 °C'den 220 °C'ye kadar 4 °C /dk olarak belirlendi. 220 °C'de 8 dakika tutuldu ve toplam süre 35 dakika olarak belirlendi. Taşıyıcı gaz olarak azot gazı kullanıldı. Analiz sırasında örneklere ait yağ asidi metil esterlerinin analizinden önce, standart yağ asidi metil esterlerine ait karışımlar enjekte edilerek, her bir yağ asitinin alıkonma süreleri belirlendi. Bu işlemden sonra gerekli programlama yapılarak örneklere ait yağ asidi metil esterleri karışımlarının analizi yapıldı. Sonuçlar toplam yağ asitleri içinde her bir yağ asidi için % miktar olarak belirlendi. Hesaplamalar GC Solution 2.3 programı kullanılarak yapıldı.

4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel değerlendirmeler SPSS 22.0 FOR WINDOWS paket programı kullanılarak yapıldı. Gruplar arasındaki karşılaştırmalar için ONE WAY ANOVA testi uygulandı ve Gruplar arasındaki farklılıklar LSD testi uygulaması ile belirlendi ve standart sapma olarak standart error alındı. $p<0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5. BULGULAR

Çizelge 5.1 Hayvanlarda deney süresince gözlenen açlık kan şekerleri değerleri



5.1. Yağ Asiti Parametreleri

5.1.1. Böbrek Yağ Asiti Parametreleri

Miristik asit (14:0), Pentadekenoik asit(15:0), Palmitik asit (16:0), palmitoleik asit (16:1, n-9), Heptadekanoik asit (17:0), Cis-10- Heptadekanoik (17:1), Stearik asit (18:0), yağ asitlerinde gruplarında kontrol grubuna göre STZ, STZ+DN ve DN gruplarında istatistiksel olarak önemli bir değişiklik gözlenmemiştir ($p>0,05$)

Elaidik asit (18:1, n-9t) yağ asiti kontrol grubuna göre STZ grubunda istatistiksel olarak önemli bir değişiklik gözlenmemiştir ($p>0,05$). STZ+DN ve DN gruplarında ise önemli bir azalma tespit edilmiştir ($p< 0.01$). Oleik asit (18:1, n-9c) yağ asitinde konrol grubuna göre STZ, STZ+DN ve DN gruplarında istatistiksel olarak önemli bir değişiklik gözlenmemiştir ($p>0,05$). Linoleik asit (18:2, n-6t) yağ asiti kontrol grubuna göre STZ ve STZ+DN gruplarında istatistiksel olarak anlamlı

bir değişiklik gözlenmezken($p>0,05$), DN grubunda ise önemli bir azalma tespit edilmiştir ($p<0,01$).

Linoleik asit(18:2, n-6c) kontrol grubuna göre STZ ve DN guruplarında artığı, STZ+DN rubunda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmediği tespit edildi ($p< 0.05$; $p>0,05$). Gamalinoleik asit (18:3, n-6) yağ asidinde kontrol grubuna göre STZ, STZ+DN ve DN gruplarında önemli bir artış tespit edildi ($p<0,001$). Araşhidik asit (20: 0) ve alfa linolenik asit (18:3, n-3) yağ asitlerinde kontrol grubuna göre STZ, STZ+DN ve DN gruplarında arttığı gözlemlenmiştir ($p< 0.001$, $p< 0.01$). Cis-11-Eikosenoik asit (20:1, n-9) yağ asitinde kontrol grubuna göre STZ, STZ+DN ve DN gruplarında önemli bir azalma tespit edilmiştir ($p<0,001$).

Henikosanoik asit (21:0), Cis-11,14-Eikosenoik asit(20:2), Eikosatrienik asit (20:3 n-3), yağ asitlerinde kontrol grubuna göre STZ, STZ+DN ve DN gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0,05$). Eikosatrienoik asit (20:3, n-6) yağ asitinde kontrol grubuna göre STZ, STZ+DN ve DN gruplarında önemli bir artış tespit edildi ($p<0,01$). Araşhidonik asit (20:4, n-6) ve Erusik asit (22:1, n-9) yağ asitlerinde kontrol grubuna göre STZ, STZ+DN ve DN gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0,05$). Trikosanoik asit (23:0) yağ asitinde kontrol grubuna göre STZ STZ+DN ve DN gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edildi ($p< 0.05$, $p< 0.001$, $p< 0.01$) . Dokosadienoik asit (22:2) ve Eikosadienoik asit (20:5, n-3) yağ asitlerinde kontrol grubuna göre STZ, STZ+DN ve DN gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0,05$). Lignoserik asit (24:0) yağ asitinde kontrol grubuna göre STZ, STZ+DN ve DN grupların istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir ($p<0,01$, $p<0,01$, $p<0,001$). Nervonik asit (24:1 n-9) yağ asitinde kontrol grubuna göre STZ STZ+DN ve DN gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edildi ($p<0,001$, $p<0,01$). Dokosaheksaenoik asit (22:6, n-3) yağ asitinde kontrol grubuna göre STZ, STZ+DN ve DN gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0,05$).

Monosat, polisat, omega-3, omega-6 kontrol grubuna göre STZ, STZ+DN ve DN gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0,05$). Omega-3'ün omega-6'a oranı ise STZ ve DN gruplarında istatistiksel olarak anlamlı

bir değişiklik gözlenmezken (p>0,05), STZ+DN grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir.

Çizelge 5.2 Böbrek yağ asidi kompozisyonu (%)

Yağ asitleri	Kontrol	Stz	Stz Dağ nanesi	Dağ nanesi
14:0	0,39±0,05	0,52±0,06 [a]	0,57±0,06 [a]	0,52±0,10 [a]
15:0	0,47±0,03	0,48±0,04 [a]	0,49±0,05 [a]	0,45±0,05 [a]
16:0	19,98±0,38	20,14±0,47 [a]	21,52±0,75 [a]	21,31±0,85 [a]
16:1, n-9	1,08±0,23	1,21±0,21 [a]	1,67±0,10 [a]	1,57±0,39 [a]
17:0	0,92±0,04	0,87±0,02 [a]	0,82±0,06 [a]	0,83±0,07 [a]
17:1	0,32±0,01	0,37±0,03 [a]	0,39±0,05 [a]	0,37±0,05 [a]
18:0	16,09±0,43	15,63±1,01 [a]	14,42±0,99 [a]	14,87±1,03 [a]
18:1, n-9t	0,64±0,02	0,57±0,06[a]	0,41±0,01[c]	0,44±0,04 [c]
18:1,n-9c	14,64±0,69	15,75±0,78 [a]	16,28±0,99 [a]	15,13±1,01 [a]
18:2, n-6t	0,11±0,00	0,10±0,00[a]	0,10±0,00[a]	0,08±0,01[c]
18:2, n-6c	18,67±0,08	20,10±0,30 [b]	19,64±0,76 [a]	20,03±0,29[b]
18:3, n-6	0,02±0,02	0,15±0,00[d]	0,14±0,00[d]	0,13±0,00[d]
20:0	0,16±0,01	0,19±0,01 [a]	0,18±0,02 [a]	0,17±0,01 [a]
18:3, n-3	0,50±0,03	0,63±0,03 [d]	0,66±0,05 [d]	0,62±0,03 [c]
20:1, n-9	0,22±0,02	0,12±0,01[d]	0,01±0,01[d]	0,00±0,00[d]
21:0	0,02±0,00	0,02±0,00 [a]	0,02±0,00 [a]	0,02±0,00 [a]
20:2	0,37±0,04	0,38±0,02 [a]	0,33±0,04 [a]	0,35±0,04 [a]
20:3, n-3	0,80±0,09	0,80±0,07 [a]	0,75±0,15 [a]	0,75±0,06 [a]
20:3, n-6	0,14±0,02	0,23±0,02[c]	0,22±0,02[c]	0,20±0,03[c]
20:4, n-6	19,05±0,52	17,58±1,30 [a]	17,01±1,35 [a]	18,14±1,27 [a]

Çizelge 5.2 Böbrek yağ asidi kompozisyonu (%) (Devamı)

22:1, n-9	0,00±0,00	0,00±0,00 [a]	0,01±0,00 [a]	0,00±0,00 [a]
23:0	0,00±0,00	0,02±0,00[b]	0,05±0,01[d]	0,03±0,00[c]
22:2	0,15±0,00	0,15±0,00 [a]	0,14±0,01 [a]	0,14±0,01 [a]
20:5, n-3	0,13±0,01	0,13±0,01 [a]	0,14±0,01 [a]	0,10±0,01 [a]
24:0	0,11±0,05	0,29±0,02[c]	0,29±0,02[c]	0,33±0,03[d]
24:1,n-9	0,04±0,01	0,10±0,00[d]	0,11±0,00[d]	0,08±0,01[c]
22:6,n-3	2,15±0,18	1,83±0,15 [a]	1,93±0,17 [a]	1,94±0,14 [a]
MONOSAT	16,98±0,86	18,14±0,92 [a]	18,93±1,10 [a]	17,60±1,35 [a]
POLİSAT	42,07±0,80	42,01±0,77 [a]	40,88±1,13 [a]	42,52±1,04 [a]
Omega-3	3,59±0,27	3,40±0,18 [a]	3,28±0,26 [a]	3,45±0,15 [a]
Omega-6	38,00±0,59	38,19±0,62 [a]	37,13±0,94 [a]	38,59±0,85 [a]
Omega-3/omega-6	0,09±0,00	0,08±0,00 [a]	0,19±0,11[d]	0,08±0,00 [a]

a: $p > 0.05$; b: $p < 0.05$; c: $p < 0.01$; d: $p < 0.001$

5.1.2. Beyin Yağ Asiti Parametreleri

Miristik asit (14:0) yağ asitinde kontrol grubuna göre STZ ve DN gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0.05$), STZ+DN grubunda ise istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmemiştir ($p>0,05$). Pentadekenoik asit(15:0), Palmitik asit (16:0), palmitoleik asit (16:1, n-9), Heptadekanoik asit (17:0), Cis-10- Heptadekanoik (17:1), Stearik asit (18:0), Yağ asitleri kontrol grubuna göre STZ, STZ+DN ve DN gruplarında istatistiksel olarak önemli bir değişiklik gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Elaidik asit (18:1, n-9t) yağ asiti kontrol grubuna göre STZ grubunda istatistiksel olarak önemli bir değişiklik gözlenmemiştir ($p>0,05$), STZ+DN ve DN gruplarında ise istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,001$). Oleik asit

(18:1, n-9c) ve Linelelaidik asit (18:2, n-6t) yağ asiti kontrol grubuna göre STZ ve STZ+DN gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. ($p>0,05$). Linoleik asit (18:2, n-6c) kontrol grubuna göre STZ, STZ+DN ve DN gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p<0,001$). Gamalinoleik asit (18:3, n-6) yağ asidinde kontrol grubuna göre STZ, STZ+DN ve DN gruplarında önemli istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ($p>0,05$). Araşhidik asit (20: 0) yağ asidinde kontrol grubuna göre STZ ve DN gruplarında önemli bir artış gözlenirken ($p<0,05$, $p<0,01$), STZ+DN grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Alfa linolenik asit (18:3, n-3) yağ asidinde kontrol grubuna göre bütün guruplarda azaldığı gözlenmiştir ($p<0.001$). Cis-11-Eikosenoik asit(20:1, n-9) yağ asitinde kontrol grubuna göre STZ, STZ+DN ve DN gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artma tespit edilmiştir ($p<0,001$). Heneikosanoik asit (21:0) yağ asidinde kontrol grubuna göre STZ, STZ+DN ve DN gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilmiştir ($p<0,01$, $p<0,001$). Cis-11,14-Eikosenoik asit (20:2) yağ asidinde kontrol grubuna göre STZ grubunda önemli bir azalma tespit edilirken ($p<0,01$), STZ+DN ve DN gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Eikosatrienik asit (20:3, n-3), yağ asitinde kontrol grubuna göre STZ grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmezken ($p>0,05$), STZ+DN ve DN gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artma tespit edilmiştir ($p<0,001$). Behenik asit (22:0) yağ asidinde kontrol grubuna göre STZ grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmezken ($p>0,05$), STZ+DN grubunda anlamlı bir azalma tespit edilmiş ($p<0,05$). DN grubunda anlamlı bir artma tespit edilmiştir ($p<0,01$). Eikosatrienoik asit (20:3, n-6) yağ asitinde kontrol grubuna göre STZ, STZ+DN ve DN gruplarında önemli bir artış tespit edildi ($p<0,001$). Araşhidonik asit (20:4, n-6) yağ asidinde kontrol grubuna göre STZ, STZ+DN ve DN gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir ($p>0,05$). Erusik asit (22:1, n-9) yağ asitlerinde kontrol grubuna göre STZ, STZ+DN gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilmiş olup ($p<0,01$, $p<0,001$), DN grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir.($p>0,05$).

Trikosanoik asit (23:0) yağ asitinde kontrol grubuna göre STZ grubunda istatistiksel olarak önemli değişim gözlenmezken ($p>0,05$), STZ+DN ve DN gruplarında anlamlı bir azalma tespit edilmiştir ($p<0,001$). Dokosadienoik asit (22:2) yağ asidinde kontrol grubuna göre STZ, STZ+DN ve DN gruplarında önemli bir artış tespit edildi ($p<0,001$). Eikosadienoik asit (20:5, n-3) yağ asidinde kontrol grubuna göre STZ grubunda istatistiksel olarak önemli bir değişiklik gözlenmezken ($p>0,05$), STZ+DN ve DN gruplarında istatistiksel olarak önemli bir artış tespit edildi ($p<0,001$). Lignoserik asit (24:0) yağ asitinde kontrol grubuna göre STZ ve DN gruplarında istatistiksel olarak önemli bir değişiklik gözlenmezken ($p>0,05$), STZ+DN grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilmiştir ($p<0,05$). nervonik asit (24:1 n-9) yağ asitinde kontrol grubuna göre STZ STZ+DN ve DN gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edildi ($p<0,001$). Dokosaheksaenoik asit (22:6, n-3) yağ asitinde kontrol grubuna göre STZ grubunda istatistiksel olarak önemli bir değişiklik gözlenmezken ($p>0,05$), STZ+DN ve DN gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edildi ($p<0,05$).

Tekli doymamış yağ asitleri kontrol grubuna göre STZ ve STZ+DN grubunda istatistiksel olarak önemli bir azalma tespit edildi ($p<0,01$, $p<0,05$), DN grubunda istatistiksel olarak önemli bir değişim tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Çoklu doymamış yağ asitleri kontrol grubuna göre STZ ve STZ+DN grubunda istatistiksel olarak önemli bir artma tespit edildi ($p<0,01$, $p<0,05$). DN grubunda istatistiksel olarak önemli bir değişim tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Toplam Omega-3 yağ asitlerinin kontrol grubuna göre STZ, STZ+DN ve DN gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Omega-6 yağ asitlerinin toplamının kontrol grubuna göre STZ ve STZ+DN grubunda istatistiksel olarak önemli bir artma tespit edildi ($p<0,001$, $p<0,05$). DN grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir değişim tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Omga-3/omega6 oranı kontrol grubuna göre STZ, STZ+DN ve DN gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

Çizelge 5.3 Beyin yağ asidi kompozisyonu (%)

Yağ asitleri	Kontrol	Stz	Stz+Dağnanesi	Dağnanesi
14:0	0,12±,00	0,16±0,01[b]	0,12±,00[a]	0,15±0,01[b]
15:0	0,06±0,06	0,00±0,00[a]	0,02±0,01[a]	0,05±0,02[a]
16:0	23,92±0,21	23,89±0,16[a]	24,10 ±0,16[a]	24,14±0,16[a]
16:1, n-9	0,77 ±0,30	0,46±0,01[a]	0,46 ±0,01[a]	0,56 ±0,08[a]
17:0	0,39 ±0,04	0,38±0,01[a]	0,41±0,01[a]	0,36±0,01[a]
17:1	0,07±0,07	0,00±0,00[a]	0,00±0,00[a]	0,03±0,02[a]
18:0	23,72±2,11	26,5±0,15[a]	26,41 ±0,10[a]	26,07±0,37[a]
18:1, n-9t	0,75±0,06	0,67±0,02[a]	0,22±0,05[d]	0,00±0,00[d]
18:1,n-9c	17,72±0,37	15,72±0,16[a]	15,87±0,46[a]	16,76±0,33[a]
18:2n6c	0,67±0,02	0,92±0,04[d]	1,04±0,03[d]	0,90±0,02[d]
18:3, n-6	0,00±0,00	0,00±0,00[a]	0,00±0,00[a]	0,00±0,00[a]
20:0	0,28±0,00	0,31±0,00[b]	0,30±0,00[a]	0,32±0,01[c]
18:3, n-3	0,15±0,14	0,02±0,00[d]	0,03±0,00[d]	0,03±0,00[d]
20:1, n-9	1,22±0,04	1,90±0,09[d]	2,14±0,05[d]	2,37±0,07[d]
21:0	0,07 ±0,01	0,02±0,01[c]	0,00 ±0,00[d]	0,00 ±0,00[d]
20:2	0,10±0,02	0,05±0,01[c]	0,13±0,01[a]	0,11±0,01[a]
20:3, n-3	0,36±0,02	0,31±0,03[a]	0,13±0,01[d]	0,19±0,02[d]
22:0	0,26±0,01	0,22±0,00[a]	0,21±0,00[b]	0,33±0,02[c]
20:3, n-6	0,06±0,00	0,47±0,02[d]	0,32±0,01[d]	0,31±0,00[d]
20:4, n-6	12,01±0,10	12,29±0,09[a]	11,94±0,12[a]	11,88±0,04[a]

Çizelge 5.3 Beyin yağ asidi kompozisyonu (%) (Devamı)

22:1, n-9	0,12±0,00	0,09±0,00[c]	0,07±0,00[d]	0,11±0,01[a]
23:0	0,13±0,01	0,13±0,00[a]	0,03±0,01[d]	0,00±0,00[d]
22:2	0,06±0,01	0,14±0,01[d]	0,16±0,01[d]	0,13±0,01[d]
20:5, n-3	0,00±0,00	0,01±0,00[a]	0,02±0,00[d]	0,02±0,00[d]
24:0	0,33 ±0,02	0,34 ±0,00[a]	0,29 ±0,00[b]	0,34 ±0,01[a]
24:1, n-9	0,11 ±0,01	0,25 ±0,01[d]	0,39 ±0,02[d]	0,40 ±0,02[d]
22:6,n-3	14,55 0,05	14,99 ±0,07[a]	14,74 ±0,18[b]	14,74 ±0,18[b]
MONOSAT	21,00 0,59	19,06 ±0,14[c]	19,22 ±0,51[b]	20,35 ±0,42[a]
POLİSAT	28,01±0,25	29,26 ±0,11[c]	28,72±0,32[b]	28,35±0,22[a]
Omega3t	15,08±0,15	15,34±0,09[a]	15,19 ±0,18[a]	14,99±0,17[a]
Omega6t	12,76±0,10	13,70 ±,09[d]	13,23 ±0,11[b]	13,09±0,14[a]
Omga3t/bom6t	2,61 ±1,42	1,12 ±0,01[a]	1,14 ±0,01[a]	1,14 ±0,02[a]

a: $p > 0.05$; b: $p < 0.05$; c: $p < 0.01$; d: $p < 0.001$

5.2. Lipofilik Vitamin Düzeyleri

5.2.1. Böbrek Lipofilik Vitamin ve MDA Parametreleri

Böbrek vitamin değerleri Retinolün Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında STZ+DN grubunda önemli artış gözlendi ($p<0,001$). STZ ve DN gruplarında ise istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0,05$). Retinol asetat kontrol grubu ile karşılaştırldığında STZ grubunda dedektörün değer algılamadığı, STZ+DN ve DN gruplarında ise istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0,05$). K_2 vitamin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında STZ grubunda Önemli bir artış gözlendi ($p<0.05$). STZ+DN ve DN gruplarında ise istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0,05$).

RTOK vitamin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında STZ grubunda önemli bir artış gözlendi ($p< 0.001$). STZ+DN ve DN gruplarında ise istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0,05$). Vitamin D_3 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında

STZ, STZ+DN ve DN gruplarında isistatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi (p>0,05). Alfa-tokoferol vitamin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında STZ, STZ+DN ve DN gruplarında önemli bir azalma gözlendi (p< 0.05). Kolesterol kontrol grubu ile karşılaştırıldığında STZ, STZ+DN ve DN gruplarında isistatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi (p>0,05). Stigmasterol kontrol grubu ile karşılaştırıldığında STZ ve DN grubunda önemli bir artış gözlenirken (p< 0.05, p< 0.01), STZ+DN grubunda istatistiksel olarak önemli bir artış gözlenmedi (p>0,05). MDA kontrol grubu ile karşılaştırıldığında STZ grubunda önemli bir artış saptanırken, STZ+DN ve DN gruplarında istatistiksel olarak önemli bir artış gözlenmedi (p < 0.001, p>0,05).

Çizelge 5.4 Böbrek lipofilik vitamin ve MDA parametreleri

	Kontrol (K)	Stz	Stz+DağNanesi	Dağ nanesi
Retinol µg/g	0,11±0,01	0,71±0,12^{a}	3,83±0,34^{d}	0,81±0,10^{a}
Retinolast µg/g	1,99±1,04	0,00±0,00^{d}	3,57±0,00^{a}	0,08±0,01^{a}
K2 µg/g	2,11±0,17	2,80±0,16 ^{b}	1,88±0,20 ^{a}	1,99±0,08 ^{a}
RTOK µg/g	0,12±0,06	0,32±0,03^{d}	0,11±0,01 ^{a}	0,12±0,01 ^{a}
Vitamin D_3 µg/g	13,60±0,57	14,21±0,32 ^{a}	14,02±0,31 ^{a}	12,98±0,22 ^{a}
Alfa-tokoferol	19,49±2,43	15,65±0,77^{b}	13,42±0,69^{b}	15,68±0,29^{b}
Kolestrol µg/g	32,53±1,52	29,20±1,18^{a}	31,28±0,67^{a}	34,02±0,79^{a}
Stigmasterol µg/g	4,26±0,23	14,34±3,88^{b}	5,81±0,30 ^{a}	17,22±1,66^{c}
MDA	6,56±0,02	33,93±1,37^{d}	6,25±0,01^{a}	6,25±0,01^{a}

a: p > 0.05; b: p < 0.05; c: p < 0.01; d: p < 0.001

5.2.2. Beyin Lipofilik Vitamin ve MDA Parametreleri

Beyin vitamin değerleri Retinolün Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında STZ STZ+DN ve DN grubunda önemli azalma gözlenmiştir ($p<0,001$, $p < 0.01$,). Retinol asetat kontrol ile karşılaştırıldığında STZ ve STZ+DN grubunda önemli azalma gözlenirken ($p<0,001$). K_2 vitamin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında STZ ve DN grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmezken ($p>0,05$), STZ+DN grubunda önemli bir artış tespit edildi ($p<0.001$). Vitamin D_3 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında STZ grubunda önemli bir azalma tespit edildi ($p<0.001$) , STZ+DN grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmezken ($p>0,05$), DN grubunda ise anlamlı bir azalma tespit edilmiştir ($p< 0.01$).

Alfa-tokoferol vitamin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında STZ grubunda önemli bir azalma gözlenirken ($p< 0.01$), STZ+DN ve DN grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0,05$). Kolesterol kontrol grubu ile karşılaştırıldığında STZ ve DN grubunda grubunda önemli bir azalma tespit edilmiştir ($p < 0.001$), STZ+DN grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0,05$). Stigmasterol kontrol grubu ile karşılaştırıldığında STZ grubunda önemli bir azalma tespit edilirken ($p<0.01$), STZ+DN grubunda önemli bir artış tespit edilmiştir ($p<0.01$), DN grubunda ise istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi ($p>0,05$). MDA seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında STZ, STZ+DN ve DN gruplarında artış saptanmıştır ($p<0.001$, $p < 0.05$).

Çizelge 5.5 Beyin lipofilik vitamin ve MDA parametreleri

	Kont (K)	Stz	Stz+Dağnanesi	Dağ nanesi
Retinol µg/g	0,89±0,17	0,04±0,01[d]	0,63±0,09[c]	0,32±0,07[d]
Retinolast µg/g	0,56±0,05	0,20±0,00[d]	0,27±0,00[d]	0,54±0,13[a]
K2 µg/g	2,88±0,22	2,58±0,14[a]	3,64±0,07[d]	3,12±0,09[a]
Vitamin D3 µg/g	8,61±1,02	5,70±0,31[d]	8,06±0,12 [a]	7,31±0,22[c]
Alfa-tokoferol µg/g	9,59±1,40	6,77±0,48[c]	9,33±0,30[a]	9,30±0,41[a]
Kolestrol µg/g	49,52±0,27	43,58±0,37[d]	48,35±0,18 [a]	45,54±0,09[d]
Stigmasterol µg/g	35,96±10,04	24,57±5,40[c]	52,49±4,37[c]	29,15±1,97[a]
MDA µg/g	14,57±0,21	22,39±0,51[d]	16,96±0,8[b]	16,71±0,27[b]

a: $p > 0.05$; b: $p < 0.05$; c: $p < 0.01$; d: $p < 0.001$

6. TARTIŞMA

Diabetes mellitus, insülin sekresyonunda, insülin etkisinde meydana gelen kusurlardan kaynaklanan karbohidrat, yağ ve protein metabolizmalarnında bozukluğa neden olan ve hiperglisemi ile karakterize olan metabolik bir bozukluktur. Diabetes mellitusun etkileri arasında uzun süreli hasar, fonksiyon bozukluğu ve çeşitli organların yetersizliği sayılabilir. En şiddetli formlarında, ketoasidoz veya ketotik olmayan bir hiperosmolar durum gelişebilir ve sersemlik, koma ve etkili bir tedavinin yokluğunda ölüme yol açabildiği için önemli bir sağlık sorunudur [3].

İnsan beyninde neredeyse yüzde 60 oranında yağ bulunur. Son yıllarda, yağ asitlerinin beyninizin bütünlüğünü ve gerçekleştirme yeteneğini belirleyen en önemli moleküller arasında olduğu ortaya çıkmıştır. Esansiyel yağ asitleri (EFA'lar), optimal sağlığın korunması için gereklidir, ancak vücut tarafından sentezlenemezler ve diyet kaynaklarından elde edilmeleri gerekir. Yapılan klinik çalışmalar ile bozulmuş beyin performansı ve hastalıklara yağ asitlerinin dengesizlik diyet alımı ile ilgili olduğu ortaya konmuştur [113].

Yapılan araştırmalar göstermiştir ki beyin büyümesinin çoğu 5-6 yaşları arasında tamamlamaktadır. Doğumda beyin ağırlığı bir yetişkinin% 70'i kadardır,% 15'lik beyin büyümesi bebeklik döneminde ortaya çıkar ve kalan beyin büyümesi okul öncesi yıllarda tamamlanır. Dekosaheksaenoik asit (DHA), merkezi sinir sistemindeki ve retinadaki baskın yapısal yağ asididir ve bulunabilirliği, beyin gelişimi için çok önemlidir. Gebe kadınlar üzerine yapılan araştırmalarda gebe ve emziren kadının fetüsünün ve emzirilen bebeğinin ihtiyacına bakmak için günde en az 2.6 gr. omega-3 yağ asidi ve günde 100–300 mg DHA alması önerilmiştir. Takip eden çalışmalarda ise esansiyel yağ asidi (EFA) dekosaheksaenoik asit (DHA) ile takviye edilen annelerin bebeklerinin 4 yaşında daha yüksek zihinsel işlem skorları, psikomotor gelişim, el-göz koordinasyonu ve stereo keskinliği olduğunu göstermiştir [114].

(n-3) yağ asitleri temel besin maddeleridir ve önemli rollerinden biri, sinir dokusunun büyümesi ve işlevi için dokosaheksaenoik asit (DHA 22:6, n-3) sağlamaktır. Azalan DHA, beyin gelişimi sırasında özellikle önemli olan bilişsel ve

davranışsal performanstaki bozukluklarla ilişkilidir. Son araştırmalar DHA'nın nörogenezde, nörotransmisyonda ve oksidatif strese karşı korunmada çalıştığını göstermektedir. Bu fonksiyonlar, nöral membranların hidrofobik çekirdeğindeki DHA rolleri ve esterleşmemiş DHA'nın etkileri ile ilgilidir [115].

Yapılan bir çalışmada beyin dokularının yağ asidi bileşimi içinde başlıca olarak palmitik (16:0), stearik (18:0), oleik (18:1, n-9), linoleik (18:2, n-6) araşidonik (20:4, n-6) ve dokasaheksaenoik (22:6, n-3) asitlerin bulunduğunu saptadığı, palmitik asidin (16:0) diyabet grubunda arttığı, oleik (18:1, n-9) asidin beyin dokusunda azaldığı, araşidonik asit (20:4, n-6) düzeyinin beyin dokusunda diyabet gruplarında arttığını bildirmiştir. Bizim çalışmamızda ise beyin dokusunda palmitik asit (16:0), oleik asidin(18:1, n-9), araşidonik asit (20:4, n-6) düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bir değişim gözlenmemiştir. Linoleik asit (18:2) düzeyinin tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı olarak artış saptanmıştır [116].

Hayvanlar üzerinde yapılan bir araştırmada, dendritik arborizasyon ve beyin kaynaklı nörotrofik faktör seviyeleri, omega-3 yağ asitlerinin alımı ile pozitif ilişkili olduğu ortaya konmuştur. Özellikle insanlarda omega-3 yağ asidi alımının gri madde hacmindeki bireysel farklılıklara, in vivo, nöronal bütünlüğün sistem düzeyinde bir indeksine göre değişip değişmediği test edilmiş. İlgi bölgesi analizleri, bildirilen diyet omega-3 alımı ile gri madde hacmi, sağ hipokampus ve beynin toplam gri madde hacmine göre ayarlanan sağ amigdala arasındaki pozitif ilişkisi olduğu ortaya konmuştur. Kısıtsız bütün beyin analizleri, yüksek omega-3 yağ asitleri alımının, diğer bölgelerde değil, bu bölgelerde daha yüksek gri madde hacmiyle selektif olarak ilişkili olduğunu doğrulamıştır. Sonuçta ise Uzun zincirli omega-3 yağ asitlerinin daha yüksek rapor edilen tüketimi, duygusal uyarılmayı ve düzenlemeyi destekleyen bir kortikolmbik devrenin düğümlerinde daha büyük gri madde hacmi ile ilişkili olduğu belirlenmiştir [117].

Yaşlı Wistar sıçanlarının kalp, kas ve beyindeki yağ asitleri düzeyindeki antioksidan resveratrol ve kanserojen $KBrO_3$'ün etkilerini incelendiği bir araştırmada beyin dokusunda palmitoleik asit (16:1, n-9) ve stearik asit (18:0) seviyeleri azaldığı tespit edilmiştir. [118]. Bizim çalışmada ise beyin dokusunda palmitoleik asit (16:1, n-9) ve Stearik asit (18:0) yağ asitleri istatistiksel olarak önemli bir değişiklik

gözlenmemiştir. Sonuçlarımız ile yapılan çalışma sonuçları ile uyumluluk göstermemektedir.

Yapılan bir başka araştırmada böbrek dokusunda Yağ asidi bileşimi içinde palmitik asit (16:0) miktarının azaldığı gözlenmiştir. Palmitoleik (16:1, n-9) ve Oleik asit (18:1, n-9) miktarları diabet ve antioksidan madde verilen gruplarda azaldığı saptandı. Araşidonik asit (20:4 n-6) miktarının, arttığı belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda ise böbrek dokusunda palmitik asit (16:0), palmitoleik asit (16:1, n-9), Oleik asit (18:1, n-9), araşidonik asit (20:4 n-6) düzeylerinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Bizim sonuçlarıız yapılan araştırma sonuçları ile uyumlu değildir [119].

Son zamanlarda, omega-3 desteğinin sağlıklı deneklerdeki bazı bilişsel ve fizyolojik parametreler üzerindeki etkilerini incelemiş ve omega-3 desteğinin, özellikle karmaşık kortikal işlemeyi içeren, dikkat ve fizyolojik fonksiyonların iyileştirilmesi ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır [120].

Çeşitli organlar arasında, beyinde, en çok çalışılan yağ asitleri omega-3 yağ asitleridir. Alfa-linolenik asit (18:3, n-3) eksikliği, membranların yapısını ve işlevini değiştirir ve hayvan modellerinde ve daha sonra insan bebeklerde gösterildiği gibi küçük serebral işlev bozukluklarına neden olduğu belirtilmiştir. Lipitler ve özellikle omega-3 yağ asitleri, diyetin (besinlerin) beynin yapısı ve işlevi üzerindeki etkisinin ilk tutarlı deneysel gösterisini sağladı. Aslında beyin, yağ dokusundan sonra, tek rolü membran yapısına katılmak olan lipidlerde en zengin organdır. İlk olarak, kültürlenmiş beyin hücrelerinin farklılaşması ve işleyişinin yalnızca alfa-linolenik asit değil, aynı zamanda çok uzun omega-3 ve omega-6 karbon zincirleri gerektirdiği gösterilmiştir [121].

Böbrek dokusunda yapılan bir başka araştırmada, hem araşidonik asit (20:4n-6), hem de dokosaheksaenoik (22:6, n-3) asitlerin miktarı, kontrol grubuna göre diyabet ve diğer gruplarda arttığı, Beyin dokusu yağ asidi bileşimi içinde araşidonik asit ve dokosaheksaenoik asitlerin gruplar arasında değişmediği gözlenmiştir. Bizim çalışmamızda ise Araşidonik asit (20:4, n-6) miktarının hem beyin, hem de böbrek dokusunda değişmediği ortaya konmuştur. Ayrıca beyin ve böbrek dokusunda dokosaheksaenoik asit (22:6, n-3) miktarında anlamlı bir değişim gözlenmemiş olup,

beyin dokusunda dokosaheksaenoik asit (22:6, n-3) miktarı STZ+DN ve DN gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir [122].

Alfa-linolenik asit (18:3, n-3) eksikliğinin beyin gelişimi sürecini değiştirdiği, beyin hücre zarlarının, nöronların, oligodendrositlerin ve astrositlerin kompozisyonunu ve fizikokimyasal özelliklerini bozduğu gösterilmiştir [123].

Böbrek dokusunda MDA miktarının araştırlıdığı bir çalışmada MDA miktarının anlamlı bir değişiklik gözlenmediği belirtilmiştir [124]. Bizim yaptığımız çalışmada da böbrek dokusunda MDA miktarında anlamlı bir değişim saptanmamıştır. Bulduğumuz sonuçlar yapılan araştırma ile uyumludur.

Yapılan bir başka araştırmada, böbrek dokusunda MDA seviyelerinde azalma tespit edilmiştir [125]. Yaptığımız çalışmada ise böbrekte MDA seviyesinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Buna göre bulduğumuz sonuçlar yapılan araştırma sonuçları ile uyumlu değildir.

Yapılan bir çalışmada, böbrek dokusunda MDA, stearik asit (18:0), linoleik asit (18:2 n-6), araşidonik asit (20:4, n-6) ve dokosaheksaenoik (22:6, n-3) asit düzeylerinin yüksek olduğu saptanmıştır [126]. Yaptığımız çalışmada ise stearik asit (18:0), linoleik asit (18:2 n-6), araşidonik asit (20:4, n-6), dokosaheksaenoik (22:6, n-3), ve MDA düzeylerinde anlamlı bir değişim tespit edilmemiştir. Buna göre çalışmamızın sonuçları ile yapılan araştırmanın sonuçları arasında farklılıklar gözlenmektedir.

Beyin dokusunda yapılan bir çalışmada, beyin dokusunda MDA düzeylerinde azalma tespit edimiştir [127]. Bizim çalışmada ise beyinde MDA düzeyinde artış saptadık. Sonuçlarımız anılan çalışma ile zıt sonuçlar ortaya koymaktadır.

Beyin genel olarak A vitamini gerektiren bir organ olarak tanınmaz, çünkü A vitamini eksikliği olan hayvanlarda ciddi bir histolojik lezyon görülmemiştir. Bununla birlikte, beyin dokusu hücresel A vitamini bağlayıcı proteinler ve retinoik asit için bir nükleer reseptör proteini içerir. İnsan ve sıçan beyin dokusundaki hücresel retinol bağlayıcı proteinin hücreye özgü konumunu belirlemek için immünohistokimyasal teknikler kullanıldığı bir araştırmada hücresel retinol bağlayıcı protein, özellikle beyin mikrovaskülatürünün endotel hücreleri içinde ve memeli kan-beyin bariyerinin iki birincil bölgesi olan koroid pleksusun kübik epitel hücreleri

içinde lokalize edilmiştir. Ek olarak, otoradyografik prosedürler, koroid epitelinde serum retinol bağlayıcı protein için bağlanma bölgeleri göstermiştir [128]. Yapılan bir çalışmada vitamin A konsantrasyonlarının Tip I diyabetli insanlarda kontrol grubuna göre düşmesine rağmen insüline bağımlı olmayan diyabetli insanlarda değişmediği ortaya konmuş [129]. Çalışmamızdada beyin Vitamin A düzeyinin diyabete düşerek yapılan çalışmanın sonucu ile uyumluluk gösterirken diğer guruplarda aynı uyumluluk gözlenmemiştir.

Vitamin D, hücrede iç ve dış kalsiyum dengesini düzenler. Dokularda insülin reseptör ekspresyonunu uyarıp ve hücre içi kalsiyum dengesini kontrol ederek, insülin yanıtına yardımcı olur. [130]. Vitamin D_3'ün beyin gelişimi sırasında etkisinin araştırıldığı bir çalışmada. D_3 vitamini eksikliği olan annelerden doğan sıçanların doğumda beyinde derin değişiklikler olduğunu gösterilmiştir. Korteksin daha uzun olduğu fakat daha geniş olmadığı, lateral ventriküller genişlediği, korteks orantılı olarak daha inceldiği ve beyin boyunca daha fazla hücre proliferasyonu olduğu tespit edilmiştir. Sinir büyüme faktörü ve glial hücre çizgisi türevli nörotrofik faktörün beyin içeriğinde azalma ve düşük afiniteli nörotrofin reseptörü olan p75'in ekspresyonu azalmış olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen bulgular, düşük maternal D_3 vitamininin gelişen beyin için önemli sonuçları olduğunu düşündürmektedir [131].

Beyin ve böbrek dokularında MDA düzeyinin araştırıldığı bir çalışmda ise beyin ve böbrek dokularında MDA düzeyinin belirgin şekilde arttığı, Diyabet grubu ile karşılaştırıldığında, D+Çam Yağı ve Diyabet+Acı Badem grubunun böbrek ve beyin dokularında MDA düzeyinin önemli derecede azaldığı tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada ise böbrek dokusunda MDA düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında STZ grubunda önemli bir artış saptanırken, STZ+DN ve DN gruplarında istatistiksel olarak önemli bir artış gözlemedik, beyin dokusu MDA düzeylerinde ise kontrol grubu ile karşılaştırıldığında STZ, STZ+DN ve DN gruplarında artış saptanmıştır [132].

7. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Sonuç olarak sıçanlarda diyetle ‘’*Cyclotrichium niveum*‟ extratının verilmesiyle incelenen dokularda, antioksidan sistemde etkili olan MDA düzeylerine böbrekte olumlu yönde etkileri olduğu ancak beyinde MDA seviyesini artırdığı görülmüştür. Eksraktın Böbrekte retinol miktarını artırırken, beyinde retinol miktarını azalttığı tespit edilmiştir. Alfa-tokoferol miktarını ise böbrekte azalttığı buna karşılık beyinde önemli bir değişikliğe yol açmadığı tespit edilmiştir. Yine beyin ve böbrek dokularında ‘’*Cyclotrichium niveum*‟ ekstratnın araşidonik asit (20:4, n-6) miktarında önemli bir değişikliğe yol açmamıştır. Böbrekte linoleik asit (18:2, n-6c) miktarında, anlamlı bir değişiklik gözlenmezken, beyinde ise linoleik asit (18:2, n-6c) miktarında bir artışa neden olduğu gözlenmiştir. Böbrekte alfa linolenik asit (18:3, n-3) miktarının arttığı gözlemlenmiş, buna karşın beyinde alfa linolenik asit (18:3, n-3) miktarında azalma gözlenmiştir. Buna göre ‘’*Cyclotrichium niveum*‟ ekstratnın beyin ve böbrekte yağ asidi ve vitamin düzeylerine faklı düzeyde etkileri olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılıkların açıklanabilmesi için daha ileri düzey çalışmaların yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

[1] Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Kurumu *2015-2020 Türkiye Diyabet Programı*, s21-27, 2014.

[2] A.M. Ahme, ‘’History of Diabetes Mellitus’’, *Saudi Med J*, vol. 23, pp. 373-378, 2002.

[3] World Health Organisation Department of Noncommunicable Disease Surveillance. *Definition, diagnosis and classification of Diabetes mellitus and it’s copmlications*, Geneva: Published by World Health Organisation. 1999:2

[4] *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*. American Diabetes Association. Diabetes Care Jan; 37 Supplement 1 , pp. 81-S90, 2014.

[5] A.Ullah, , A. Khan, İ. Khan, , ‘’Diabetes mellitus and oxidative stress’’ *Saudi Pharmaceutical Journal* , 24, pp. 547–553, 2016.

[6] T.A. Buchanan, , A.H. Xiang, ‘’Gestational diabetes mellitus’’. *The Journal of clinical investigation, published in volüme* 115, issue 3 on March 1, 115 ,pp. 485-491, 2005.

[7] E.J. Mayer-Davis, R.A Bell, D. Dabelea, et al. ‘’The many faces of diabetes in American youth: type 1 and type 2 diabetes in five race and ethnic populations: the SEARCH for Diabetes in Youth Study’’, *Diab Care,* 32 Suppl. 2, pp. 99-101, 2009.

[8] M. Doğan, ‘’Tıp 1 Diabetes mellituslu hastalarda karaciğer yağlanmasının serum fetuin –A düzeyi ve karotis arter intima –media kalınlığı ile ilişkisi’’, Tıpta uzmanlık tezi Erciyes Üniversitesi, 2015.

[9] Z. Durna, ‘Diyabetin Sınıflandırılması ve anı Kriterleri’ Bölüm 2, s. 13, 2002.

[10] G. Ömercioğlu, ‘’Deneysel Tip 1 dabetes mellitusta aerobik egzersizin lipopolisakkarit ile hasar oluşturulmuş sıçan akciğerleri üzerine etkisi’’, Tıpta uzmanlık tezi, Ankara Üniversitesi, 2018.

[11] A. Demirkazık, S. Gültürk, ‘’Diyabetin iskelet kası üzerine etkileri’’, *Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi dergisi* 28, s. 133-135, 2006.

[12] W. David, ‘’Cooke and Leslie Plotnick Type 1 Diabetes Mellitus in Pediatrics’’, *Pediatr. Rev*, 29, pp. 374-385, 2008.

[13] J.I. Wallace, ‘’Management of diabetes in elderly’’,*Clin. Diabetes* 17, pp. 1, 2004.

[14] H. Mohan, , *Textbook of Pathology, fourth ed.* Jaypee publishers, 2002.

[15] S. H.Tamara, R. Goutham, A. A. Silva, ‘’Childhood Obesity and Type 2 Diabetes Mellitus’’, *Pediatrics August* , volume 116 / ıssue 2, 2005.

[16] R.A. DeFronzo, ‘’The triumvirate: beta-cell, muscle, liver’’. A collusion responsible for NIDDM’’, *Diabetes.* 37, pp. 667– 687, 1988.

[17] B.L. Wajchenberg, ‘’Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome’’, *Endocr Rev*, 21, pp. 697– 738, 2000.

[18] T. Onat, K. Emerk, E.Y. Sözmen, *İnsan biyokimyası* palme yayıncılık s. 248-252, 2002.

[19] B. Özmen, ‘’Deneysel olarak oluşturulmuş tip 2 diyabette Quercus ithaburensis Dence. (Meşe palamudu) Ekstresinin oksidan ve antioksidan sistemler üzerine etkisi’’, Yüksek lisans tezi, Uludağ Üniveristesi, 2018.

[20] R. Weseler, A. Bast, ‘’Oxidative stress and vascular function: implications for pharmacologic treatments’’, *Curr. Hypertension Rep*. 12, pp. 154–161, 2010.

[21] H. Sies, ‘’Oxidative Stress’’. *Elsevier*, *Florida*, 1985.

[22] J. S. Johansen, et al, ‘’Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes’’. *Cardiovas. Diabetol*. 4, 5, 2005.

[23] M. Percival, ‘’Antioxidants’’, *Clinical Nutrition insights. NUT031 1/96 Rev.* 10/98 , 1996.

[25] A. Somogyi, et al, ‘’Antioxidant measurements’’. *Physiol. Meas.* 28, pp. 41–55, 2007.

[26] L.A. Pham-Huy, , H. He, C. Pham-Huy, ‘’Free radicals, antioxidants in disease and health’’, *IJBS* 4, pp. 89–96, 2008.

[27] B. Lipinski, ‘’Pathophysiology of oxidative stress in diabetes mellitus’’. *J. Diabetes its Complications* 15, pp. 203–210, 2001.

[28] A.C. Maritim, , R.A. Sanders, , J.B. Watkins, ‘’Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review’’, *J. Biochem. Mol. Toxicol*, 17, pp. 24–38, 2003.

[29] S.A. Moussa, ‘’Oxidative stress in diabetes mellitus’’. *Romanian J. Biophys*, 18, pp. 225–236, 2008.

[30] O.O. Erejuwa, ‘’Oxidative stress in diabetes mellitus: is there a role for hypoglycemic drugs and/or antioxidants’’, *Oxid. Stress Dis*, pp. 217–246, 2012.

[31] O.R. Ayepola, , N.L. Brooks, O.O. Oguntibeju, ‘’Oxidative Stress and Diabetic Complications: The Role of Antioxidant Vitamins and Flavonoids’’, *Antioxidant-Antidiabetic Agents and Human Health*, 2014.

[32] El Faramawy, S.M., Rizk, R.A., 2011. ‘’Spectrophotometric studies on antioxidants-doped liposomes’’. *J. Am. Sci*, 7, pp. 363–369, 2014.

[33] M. Phillips, R.N. Cataneo, T. Cheema, , J. Greenberg, ‘’Increased breath biomarkers of oxidative stress in diabetes mellitus’’, *Clin. Chim. Acta* 344 (1-2), pp. 189–194, 2004.

[34] A. Ceriello, ‘’Oxidative stress and diabetes-associated complications’’, *Endocr. Pract.* 12, pp. 60–62, 2006.

[35] D. Giugliano, A. Ceriello, G. Paolisso, ‘’Diabetes mellitus, hypertension, and cardiovascular disease: which role for oxidative stress?’’, *Metabolism* 44 (3), pp. 363–368, 1995.

[36] P. H. Lien Ai, H. Hua, P. H. Chuong, ‘’Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health’’, *Int J Biomed Sci*; 4 (2), pp. 89-96, 2008

[37] M. Valko, M. Izakovic, M. Mazur, C.J. Rhodes, J. Telser, ‘’Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence’’, *Mol. Cell. Biochem*, pp. 266 37–56, 2004.

[38] M. Inoue, E.F. Sato, M. Nishikawa, A.M. Park, Y. Kira, I. Imada, K. Utsumi, Mitochondrial generation of reactive oxygen species and its role in aerobic life, Curr. Med. Chem. 10, pp. 2495–2505, 2003.

[39] G. Loschen, B. Flohe, ‘’Chance respiratory chain linked H_2O_2 production in pigeon heart mitochondria’’, *FEBS Lett.* 18, 261–263, 1971.

[40] E. Cadenas, K.J.A. Davies, ‘’Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging, Free Rad’’, *Biol. Med.* 29 , pp. 222–230, 2000.

[41] C.Y. Li, R.M. Jackson, ‘’Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury’’, *Am. J. Physiol.-Cell Physiol*. 282 , pp. 227–241, 2002.

[42] E.M. Conner, M.B. Grisham, ‘’Inflammation, free radicals, and antioxidants’’, *Nutrition* 12, pp. 274–277, 1996.

[43] M. Gupta, K. Dobashi, E.L. Greene, J.K. Orak, I. Singh, ‘’Studies on hepatic injury and antioxidant enzyme activities in rat subcellular organelles following in vivo ischemia and reperfusion’’, *Mol. Cell. Biochem*. 176, pp. 337-347, 1997 .

[44] J.E. Klaunig, L.M. Kamendulis, ‘’The role of oxidative stress in carcinogenesis'', *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol*. 44, pp. 239–267, 2004.

[45] J.E. Klaunig, Y. Xu, S. Bachowski, J. Jiang, ‘’Free-radical oxygen-induced changes in chemical carcinogenesis, in: K.B. Wallace (Ed.), Free Radical Toxicology’’, *Taylor & Francis*, London, pp. 375–400, 1997.

[46] T. Yoshikawa, Y. Naito, ‘’What Is Oxidative Stress?’’, *JMAJ* 45(7), pp. 271–276, 2002.

[47] Y.R Li, Z. Jia, M.A. Trush, ‘’Defining ROS in biology and medicine’’. *Reactive Oxygen Species*, vol 1 ,no 1, pp. 9–21, 2016.

[48] Y. Li, H. Zhu, P. Kuppusamy, J.L. Zweier, M.A. Trush, ‘’Mitochondrial electron transport chain-derived superoxide exits macrophages: implications for mononuclear cell-mediated pathophysiological processes’’, *Reactive Oxygen Species* , vol 1 ,no 1, pp. 81–98, 2016.

[49] H. Zhu, ‘’Assays for detecting biological superoxide’’. *Reactive Oxygen Species*, vol 1 ,no 1, pp. 65–80, 2016.

[50] R. Memişoğulları, ‘’Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi’’, *Düzce tıp fakültesi dergisi,* 3, s. 30-39, 2005.

[51] I. Fridovich, ‘’Superoxide anion radical (O2-.), superoxide dismutases, and related matters’’, *J Biol Chem* , 272(30), pp. 18515–7, 1997.

[52] H . Zhu, ‘’Reactive Oxygen Species’’, *Cell Med Press* 1(3), pp. 216–227, 2016.

[53] S.J. Flora, ‘’Role of free radicals and antioxidants in health and disease’’. *Cell. Mol. Biol*, 53(1), pp. 1-2, 2007.

[54] R.Z. Hopkins, ‘’Reactive Oxygen Species’’, *Cell Med Press*,1(2), pp. 99–109, 2016.

[55] O. Özcan, ve ark, ’’Oksidatif stres ve hücre içi yapılar üzerine etkileri’’, *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6 (3), pp. 331-336, 2015.

[56] M.M. Jose and S.J. Francisca, ‘’antıoxıdant enzymes and theır ımplıcatıons ın pathophysıologıc processes’’, *Frontiers in Bioscience 4*, March 15, pp. 339-345 1999.

[57] B. Halliwell, ve J.M. C. Gutteridge, *Free Radicals in Biology and Medicine*, Clarendon Press, Oxford, UK, 3nd edition, 1999.

[58] K. Rahman, ‘’Studies on free radicals, antioxidants, and cofactors’’, *Clinical Interventions inAging*, vol. 2, no. 2, pp. 219–236, 2007.

[59] P. Chakraborty, S. Kumar , D. Dutta , V. Gupta'', *Res.J.Pharma & Tech*, 2(2), pp. 238-244, 2009.

[60] S. Sen, R. Chakraborty, ''The role of antioxidants in human health. In Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention, and Therapy''; *Andreescu, S., et al.; ACS Symposium Series; American Chemical Society*, Washington, DC, 2011.

[61] J. Mataix, J. L. Quiles, J. R. Huertas , M. Battino and M. Manas, ''Tissues specific interactions of exercise, dietary fatty acids, and vitamin E in lipid peroxidation'', *Free Rad Biol Med* 24, pp. 511-521, 1998.

[62] S.E. Stait, D.S. Leake, ''Resistance of lipoprotein(a) to lipid peroxidation induced by oxygenated free radicals produced by gamma radiolysis: a comparison with low-density lipoprotein'', *Biochem J*, 314, pp. 277–284, 1996.

[63] S.E. Stait, D.S. Leake, ''The effects of ascorbate and dehydroascorbate on the oxidation of low-density lipoprotein'', *Biochem, 320*, pp. 373–381, 1996.

[64] I. Fridovich, ''Superoxide radical and superoxide dismutases'',*Annu Rev Biochem, 64*, pp. 97–112, 1995.

[65] D. Jamieson, ''The relation of free radical production to hyperoxia''. *Ann. Rev. Physiol*, 48, pp. 703-719, 1986.

[66] M. Valko, C.J. Rhodes, J. Moncol, M. Izakovic, M. Mazur, ''Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer'', *Chemico-Biological Interactions* 160, pp. 1–40, 2006.

[67] C. Hunt, J. E. Sim, S. J. Sullivan, T. Featherstone, W. Golden, C. V. Kapp-Herr, R. A. Hock, R. A Gomez, A. J. Parsian & D. R. Spitz: ''Genomic instability and catalase gene amplification induced by chronic exposure to oxidative stress'' . *Cancer Res* 58, pp. 3986-3992, 1998.

[68] J.M. Mates, C. Perez-Gomez, I.N. De Castro, ''Antioxidant enzymes and human diseases'', *Clin. Biochem*. 32, pp. 595–603, 1999.

[69] J.D. Bogden, A. Bendich, F.W. Kemp, et al. ''Daily micronutrient supplements enhance delayedhypersensitivity skin test responses in older people'', *Am J Clin Nutr*, 60, pp. 337-347, 1994.

[70] Mayo Clinic Medical Information. ''Drugs and supplements. Vitamin E'', http://www.mayoclinic.com/health/ vitamin - e/NS_patientvitamin-e, 2005

[71] A.C. Logan, ''Omega-3 fatty acids and major depression: A primer for the mental health professional'', *Review. Lipids Health Dis*, 3: 25-33, 2004.

[72] R. Blomhof, ''Transport and Metabolism of Vitamin A'' . *February* (11), pp. 13-23, 1994.

[73] Mayo Clinic Medical Information.''Drugs and supplements. Betacarotene'', http://www.mayoclinic.com/health/beta-carotene/NS_patient-betacarotene,2005.

[74] S. Chih-Chien, L. Min-Tser, L. Kuo-Cheng, and W. Chia-Chao ,''Role of Vitamin D in Insulin Resistance'', *Hindawi Publishing Corporation Journal of Biomedicine and Biotechnology*, Volume Article ID 634195,pp. 11, 2012.

[75] S.L. Booth, J.W. Suttie , ''Dietary intake and adequacy of vitamin K'', *Nutr* 128(5), pp. 785-788, 1998.

[76] J.W. Beulens, S.L. Booth, E.G. van den Heuvel, et al. ‘’The role of menaquinones (vitamin K2) in human health’’. *Br J Nutr. FirstView* Article, pp. 1-12, 2013.

[77] Natural Standard. ‘’VitaminK-Professional Monograph’’, Available at: http://www.naturalstandard.com/databases/ vitamink. Accessed , 2013.

[78] M.A. Lovell, W.D. Ehmann, B.M. Buffer, W. R. Markesberry, ‘’Elevated thiobarbituric acid reactive substances and antioxidant enzyme activity in the brain in Alzemers disease’’, *Neurology*, 45, pp. 1594–601, 1995.

[79] E. Tvrzicka , L.S. Kremmyda, B. Stankova, A. Zak, ‘’fatty acıds as bıocompounds: theır role ın human metabolısm, health and dısease – a revıew’’. *part 1: classıfıcatıon, dıetary sources and bıologıcal functıons. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, Jun 155(2), pp. 117–130, 2011.

[80] E. Karaca, S. Aytaç, ‘’Yağ bitkilerinde yağ asitleri kompozisyonu üzerine etki eden faktörler’’ . OMÜ Zir. Fak. Dergisi, 22(1), pp. 123-131, 2007.

[81] S. Nas, Y.H. Gökalp, M. Ünsal, *Bitkisel Yağ Teknolojisi*. Pamukkale Üniversitesi Mimarlık Fakültesi Matbaası, 2001.

[82] R.K. Murray, D.A. Bender, K.M. Botham, J. P. Kennelly, V.W. Rodwel, P.A. Weil, *Harper’s Illustrated Biochemistry*. 28. Edition, 2009.

[83] U.N. Das, ‘’Essential fatty acids: biochemistry, physiology and pathology’’. *Biotechnol. J.* , 1, pp. 420–439, 2006.

[84] Ş. Çelebi, H. Kaya, , A. Kaya, ‘’Omega-3 Yağ asitlerinin İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri’’ *Alınteri Journal of Agricultural Sciences*, 32(2), pp. 105-112, 2017.

[85] University of Maryland Medical Center.’’ Omega-3 fatty acids. Overview’’. http://www.umm.edu/altmed/articles/omega-3-000316.htm, 2007.

[86] M.S. Donaldson, ‘’Nutrition and cancer: A review of the evidence for an anti-cancer diet’’.*Nutr*. J. 3, pp. 19-25, 2004.

[87] D. F. Horrobin, ‘’Essential fatty acids and complications of diabetes mellitus’’, *Wiener Klinische Worchenschrift*, pp. 289-93, 1989.

[88] M. Güvenç, ‘’Resveratrol, lipoik asit ve vitamin C ‘nin Tip 1 diabet sıçanların karaciğer böbrek ve eritrositlerinde lipofilik vitaminler kollesterol ve yağ asidi bileşimi üzerine etkileri’’. Doktora tezi, Fırat Üniveristesi, 2008.

[89] I. Gulcin, A.Z. Tel, E. Kirecci, ‘’Antioxidant, antimicrobial, antifungal, and antiradical activities of *Cyclotrichium Niveum* (BOISS.) Manden and Scheng’’, *International Journal of Food Properties*, 11, pp. 450–471, 2008.

[90] T. Dirmenci, E. Dündar, G. Deniz, T. Arabacı, E. Martin, Z. Jamzad ‘’Morphological, karyological and phylogenetic evaluation of Cyclotrichium: a piece in the tribe Mentha puzzle’’, *Turkish Journal of Botany*. 34, pp. 159-170, 2010.

[91] G. Tümen, N. Kirimer, N. Ermin, K.H.C. Başer, ‘’The essential oil of Satureja cuneifolia: A substitute of Thyme in Turkey’’, *Planta Medica*, 64, pp.81–83, 1998.

[92] K.H.C. Başer, ‘’Aromatic biodiversity among the flowering plant taxa of Turkey’’, *Pure and Applied Chemistry*, 74, pp. 527–545, 2002.

[93] K.H.C. Başer, S. Sarikardaoglu, G. Tümen, ''The Essential Oil of Cyclotrichium niveum (Boiss.) Manden & Scheng'', *Journal of Essential Oil Research*, 6, pp. 9–12, 1994.

[94] T. Baytop, *Therapy with medicinal plants in Turkey (Past and Present)*. No. 3255, 2nd ed.; Publications of the Istanbul University: Istanbul, 1999.

[95] T. Szkudelskı, ''The mechanism of alloxan and streptozotocin action in β cells of the rat pancreas'', *Physiol. Res*, 50, pp. 536-546, 2001.

[96] D.K. Arulmozhı, A. Veeranjaneyulu, S. L.Bodhankar,'' Neonatal streptozotocin-ınduced rat model of type 2 diabetes mellitus: a glance'', *Indian J. Pharmacology*, 364(2), pp. 17-221, 2004.

[97] M. Güvenç, Ö. Yılmaz, M. Tuzcu, A.D. Ozsahin, ''Contributionof Vitamin C -Lipoic Acid and Their Combination on the Products Level of Desaturase and enzymes in the Lung and Muscle Tissues of Poorly Controlled Experimental Diabetic rats'', *Research Journal of Biological Sciences*, 4(6), pp. 710-715, 2009.

[98] A. A. Rossını, A. A. Lıke, W.L. Chıck, M.C. Appel, G.F. Cahıll. ''Studies of streptozotocin-induced insulitis and diabetes'' *Proc. NatI. Acad. Sci*. USA Vol. 74,(6), pp. 2485-2489, 1977.

[99] J. Ventura-Sobrevilla, V.D. Boone-Villa, C.N. Aguilar, R. Román-Ramos, E. Vega-Ávila, E. Campos-Sepúlveda, and F. Alarcón-Aguilar, ''Effect of Varying Dose and Administration of Streptozotocin on Blood Sugar in Male CD1 Mice'' *Proc. West. Pharmacol*. Soc, 54, pp. 5-9, 2011.

[100] İ. Akkuş, *Antioksidan savunma sistemleri. Ed: Akkuş İ., Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri*, s. 42–45, Mimoza Yayınları Konya, 1995.

[101] M. Genestra, ''Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants'', Cellu-lar Signalling, 19, pp. 1807–1819,2007.

[102] L.L., De Zwart, J.H.N. Meerman, J.N.M. Commandeur, and N.P.E. Vermeulen, ''Biomarkers of Free Radical Damage Applications in experimental Animal and in Humans'', *Free Radical Biology & Medicine*, 26: 1/2, pp. 202–26, 1999.

[103] P. Kyselova, M. Zourek, Z. Rusavy, L. Trefil, J. Racek, ''Hyperinsulinemia and Oxidative Stres'' , *Physiol. Res*, 51, pp. 591-595, 2002.

[104] E. Demirhan, E.Ö. Eriman, A. İçağasıoğlu, S. Haliloğlu, ''Tip 1 Diabetes Mellitus'lu Hastaların Kemik Mineral Yoğunluğu Sağlıklı Kontrollerinkinden Farklı mı?'' *Osteoporoz Dünyasından*, 13, s. 28-32, 2007.

[105] F. Kargın, U.R. Fidancı, ''Böbrek hastalıklı köpeklerde antioksidatif metabolizma'', *Turk J Vet Anim Sci*, 25, s. 607-613, 2001.

[106] Ö. Yılmaz, S. Çelik, N. Dilsiz,'' Influence of intraperitoneally and dietary administered vitamin E and selenium on the lipid composition in reproductive organs of male animals'', *Biol Chem*, 378, pp. 425–30, ,1997.

[107] M. Güvenç, Ö. Yılmaz, M. Tuzcu, A.D. Ozsahin, ''Contributionof Vitamin C -Lipoic Acid and Their Combination on the Products Level of Desaturase and enzymes in the Lung and Muscle Tissues of Poorly Controlled Experimental Diabetic rats'', *Research Journal of Biological Sciences*, 4(6), pp. 710-715, 2009.

[108] M. Karatepe, ‘’Simultaeous Determinationof Absorbic Acid and Free Malondialdehyde in Human Serum by HPLC/UV’’, *LC-GCNorth Am*. 22(4), pp, 362-365, 2004.

[109] A, Hara, N.S, Radin, ‘’Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent’’, *Anal. Biochem*, 90, pp. 420-426, 1978.

[110] Gunstone et al ‘’The Lipid Handbook, Chapman and Hall’’, p. 559, London, 1986.

[111] N. Bragagnolo, D.B, Rodriguez-Amaya, ‘’Comparison of the cholesterol content of Brazilkian chicken and quail eggs’’, *J.Food Comp Anal*. 16 (2), pp. 147-153, 2003.

[112] W.W. Christie, ‘’Gas chromatography and lipids’’, *The Oil Pres Glaskow*, pp. 302, ,1992.

[113] C.Y Chang, D.S Ke, J.Y. Chen, ‘’Essential Fatty Acids and Human Brain’’, *Acta Neurol Taiwan* 18, pp. 231-241, 2009.

[114] M. Singh, ‘’Essential fatty acids, DHA and human brain’’, *Indian J Pediatr* , 72 (3), pp. 239-242, 2005.

[115] S.M. Innis, ‘’Dietary (n-3) Fatty Acids and Brain Development’’, *The Journal of Nutrition*, Volume 137, Issue 4, April , 137, pp. 855–859, 2007.

[116] Y. Erşan, ‘’Tip-I diabetli albino sıçanların karaciğer, kas ve beyin dokularındaki bazı kimyasal değişimler üzerinde belirli antioksidan karışımlarının düzenleyici etkileri’’. Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniviversitesi, 2003.

[117] S.M. Conklin, P.J. Gianaros, S.M. Browna, J.K. Yao, A.R. Hariri, S.B. Manuckc, M. F. Muldoonb, ‘’Long-chain omega-3 fatty acid intake is associated positively with corticolimbic gray matter volume in healthy adults’’. *Neuroscience Letters* 421, pp. 209–212, 2007.

[118] S. Keser, Ö. Yılmaz, M. Tuzcu, ‘’The Effects of Potassium Bromate and Resveratrol on Fatty Acid Levels in Heart, Muscle and Brain of Wistar Rats’’, *Gazi University Journal of Science* GU J Sci 24(2), pp. 181-186, 2011.

[119] E. Karakuş, ‘’İnsülin uygulamayan tip-I diabetik albino sıçanların karaciğer ve böbrek dokularındaki glutatyon ve esensiyal yağ asitleri üzerinde lutein, melatonin ve vitamin E'nin etkilerinin karşılaştırılması’’, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi, 2004.

[120] G. Fontani, F. Corradeschi, A. Felici, F. Alfatti, S. Migliorini, L. Lodi ‘’Cognitive and physiological effects of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation in healthy subjects’’, *Eur J Clin Invest* ,35(11), pp. 691–9, 2005.

[121] J.M. Bourre, A. Faivre, and O. Dumont, et al. ‘’Effect of polyunsaturated fatty acids onfetal mouse brain cells in culture in a chemically defined medium’’, *J. Neurochem,* 41, pp. 1234-1242, 1993.

[122] M. Güvenç, ‘’İnsülün uygulanmayan tip 1 diabetik albino sıçanların beyin, kas, testis ve akciğer dokularındaki araşidonik asit (20:4;, N-6) ve dekosaheksaenoik asit (22:6, N-3) miktarlarının değişimi üzerinde alfa lipoik asit ile vitamin C'nin etkileri’’Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi, 2004.

[123] J.M. Bourre, G. Pascal, G. Durand, M. Masson, O. Dumont and M. Piciotti, ‘’Alterations in the fatty acid composition of rat brain cells (neurons, astrocytes, and oligodendrocytes) and of subcellular fractions (myelin and synaptosomes) induced by adiet devoid of n-3 fatty acids’’, *J. Neurochem*, 43, pp. 342-348, 1984.

[124] T. Hunkar, F. Aktan, A. Ceylan, Ç. Karasu, ‘’Effects of cod liver oil on tissue antioxidant pathways in normal and streptozotocin-diabetic rats’’ *cell biochemistry and function*. Cell Biochem Funct, 20, pp. 297–302, 2002.

[125] İ. Zararsiz, M.F. Sonmez, H.R. Yilmaz, T. Tasa, İ. Kus, A. Kavakli, and M. Sarsilmaz, ‘’Effects of ω-3 essential fatty acids against formaldehyde-induced nephropathy in rats’’, *Toxicology and Industrial Health*, 22, pp. 223-229, 2006.

[126] S.E Tuğ, ‘’Karaçam odunundan elde edilen sulu ekstrelerin diyabet oluşturulmuş dişi sıçanlarda hypergliseminin kontrolü ile bazı komplikasyonlar üzerinde etkisi’’, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi, 2016.

[127] S.S. Haider, M. el-Fakhri, ‘’Action of alpha-tocopherol on vanadium-stimulated lipid peroxidation in rat brain’’, *Neurotoxicology*, 01 Jan, 12(1), pp. 79-85, 1991.

[128] P.N. Macdonald, D. Bok, D. E. Ong, ‘’Localization of cellular retinol-binding protein and retinol-binding protein in cells comprising the blood-brain barrier of rat and human’’, *PNAS* June 1, 87 (11), pp. 4265-4269, 1990.

[129] T.K. Basu, C. Basualdo ‘’Vitamin A homeostasis and diabetes mellitus’’, *J Nutr*, 15(2), pp. 156, 1999.

[130] C. Zhang, C. Qiu, F.B. Hu, R.M. David, R.M. van Dam, A. Bralley, M.A. Williams, ‘’Maternal plasma 25-hydroxyvitamin D concentrations and the risk 56 for gestational diyabetes mellitus’’, *PLoS One*. 3(11), pp 3753. 2008.

[131] D. Eyles, J. Brown, A.Mackay-Sim, J. McGrath, , F. Feron, ‘’Vitamin d3 and brain development’’, *Neuroscience*, Volume 118, Issue 3, 25 May, pp. 641-653, 2003.

[132] E. Demir, ‘’Tip-1 ve Tip-2 Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlarda Hiperglisemi Üzerine Çam ve Acı Badem Yağlarının Etkileri’’, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi, 2013.

KİŞİSEL BİLGİLİER

Adı Soyadı : Mustafa TOPALOĞLU
Doğum Yeri : Kahta
Doğum Tarihi :18/03/1975
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : mtopaloglu002@hotmail.com

Eğitim Durumu

Derece	Alan	Üniversite	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans			
Lisans	Biyoloji Öğretmenliği	Atatürk Üniversitesi	1997
Lise	Matematik	Adıyaman Lisesi	1991